

4. KONGRES STRUKOVNOG RAZREDA ZA MEDICINSKO-LABORATORIJSKU DJELATNOST

HRVATSKE KOMORE ZDRAVSTVENIH RADNIKA

MEDICINSKO-LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA U PRAKSI

s međunarodnim sudjelovanjem

4th CONGRESS OF THE PROFESSIONAL DEPARTMENT FOR MEDICAL LABORATORY ACTIVITIES

CROATIAN CHAMBER OF HEALTH PROFESSIONALS

MEDICAL LABORATORY DIAGNOSTICS IN PRACTICE

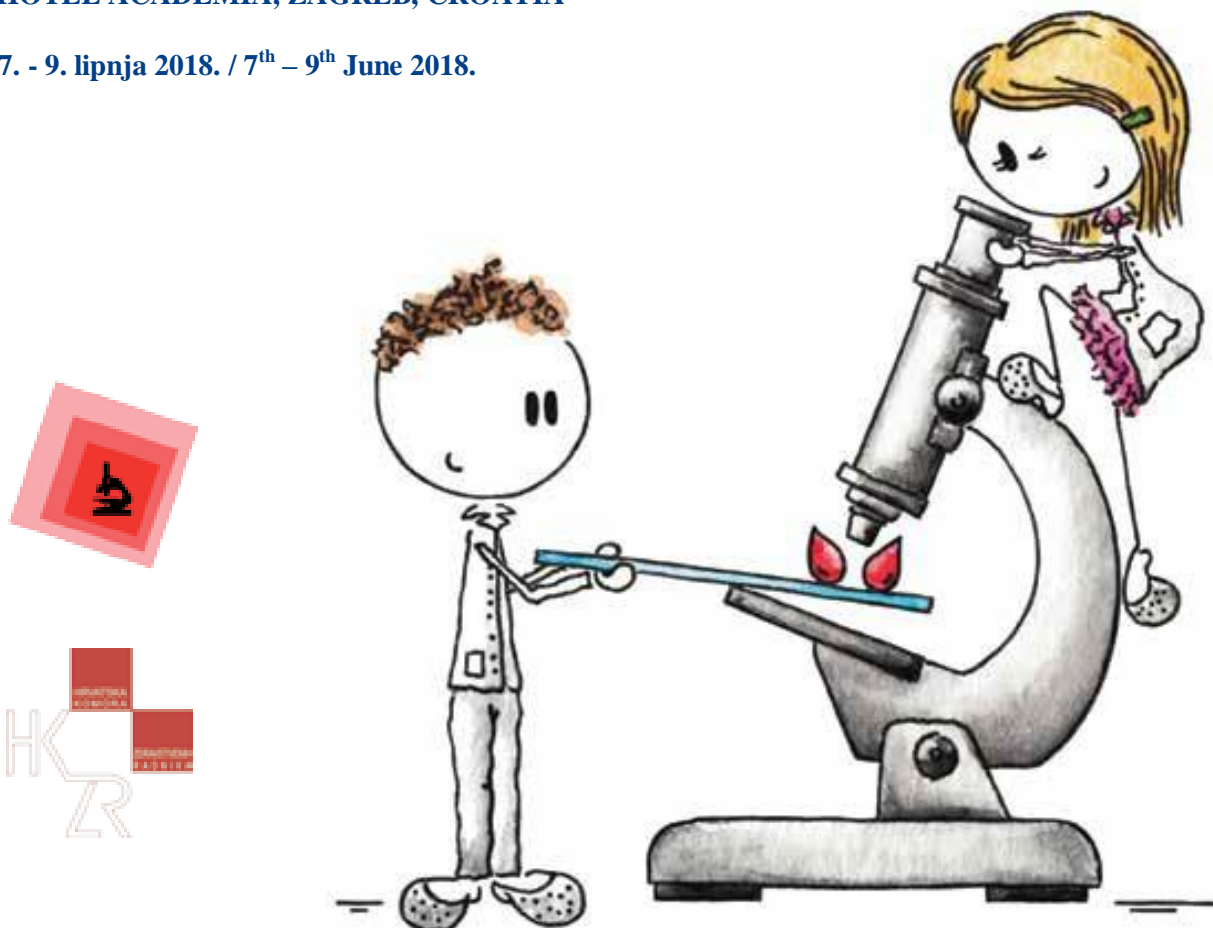
with international participation

KNJIGA SAŽETAKA / BOOK OF ABSTRACTS

HOTEL ACADEMIA, ZAGREB, HRVATSKA

HOTEL ACADEMIA, ZAGREB, CROATIA

7. - 9. lipnja 2018. / 7th – 9th June 2018.



KNJIGA SAŽETAKA

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

BOOK OF ABSTRACTS

OF THE 4th CONGRESS OF THE CROATIAN CHAMBER OF HEALTH PROFESSIONALS, PROFESSIONAL DEPARTMENT FOR MEDICAL LABORATORY ACTIVITIES

NAKLADNIK

HRVATSKA KOMORA ZDRAVSTVENIH RADNIKA
STRUKOVNI RAZRED ZA MEDICINSKO-LABORATORIJSKU DJELATNOST

Vinogradska cesta 29

ZAGREB

ZA NAKLADNIKA

Jasna Matić

UREDNIKA

Suzana Hančić

UREDNIKA PROGRAMA

Jasna Matić

UČESTALOST IZLAŽENJA

Dvogodišnje

MJESTO IZDAVANJA

Zagreb, 2018.

ISSN: 2459-8178

ORGANIZATOR / ORGANIZER



POKROVITELJI / UNDER THE AUSPICES



Predsjednica Republike Hrvatske Kolinda Grabar-Kitarović

Ministarstvo zdravstva

Gradonačelnik Grada Zagreba Milan Bandić

Hrvatska udruga laboratorijske medicine

Hrvatska udruga citotehnologa

SUORGANIZATORI / COORGANIZERS



Medicinski fakultet Sveučilišta J. J. Strossmayera u Osijeku

Fakultet zdravstvenih studija Sveučilišta u Rijeci

Zdravstveno veleučilište Zagreb

SPONZORI / SPONSORS



GLAVNE TEME / MAIN TOPICS

- Klinička kemija i hematologija / Clinical chemistry and Haematology
- Mikrobiologija / Microbiology
- Patohistologija i citologija / Pathohistology and cytology
- Transfuzijska medicina i imunologija / Transfusion medicine and Immunology
- Molekularna dijagnostika / Molecular diagnostics
- Studentska sekcija / Student Section

ORGANIZATOR / ORGANIZER

STRUKOVNI RAZRED ZA MEDICINSKO-LABORATORIJSKU DJELATNOST
HRVATSKA KOMORA ZDRAVSTVENIH RADNIKA

PROFESSIONAL DEPARTMENT FOR MEDICAL LABORATORY ACTIVITIES
CROATIAN CHAMBER OF HEALTH PROFESSIONALS

Predsjednica kongresa / Congress President

JASNA MATIĆ

Dopredsjednica kongresa / Congress Vice president

LJUBICA GLAVAŠ-OBROVAC

Tajnik kongresa / Congress Secretary

NEVEN SUČIĆ

Moderator studentske sekcije / Moderator of student section

DOMAGOJ CABAN

Administratorica kongresa / Congress Administrator

SANJA ETLING-DUNDIĆ

ORGANIZACIJSKI ODBOR / ORGANISING COMMITTEE

- **Jasna Matić**
- **Neven Sučić**
- **Đurđa Sakal**
- **Sanja Kuštreba**
- **Mirica Batarelo**
- **Domagoj Caban**
- **Ankica Bojčić**
- **Marica Semijalac**
- **Marija Čuljak**
- **Darko Mijatović**
- **Jelena Katavić**
- **Zoran Vezmar**
- **Suzana Hančić**
- **Sanja Etling-Dundić**

ZNANSTVENI ODBOR / SCIENTIFIC COMMITTEE

- **Neven Sučić**
- **Sanja Kuštreba**
- **Marija Čuljak**
- **Domagoj Caban**
- **Katja Puljčan**
- **Suzana Hančić**

MJESTO I DATUM ODRŽAVANJA / VENUE AND DATE OF EVENT

HOTEL ACADEMIA, ZAGREB, HRVATSKA
HOTEL ACADEMIA, ZAGREB, CROATIA

7. - 9. lipnja 2018. / 7th – 9th June 2018.

PROGRAM KONGRESA

ČETVRTAK, 7. lipnja 2018.

14.00-18.00 REGISTRACIJA SUDIONIKA

17.00-17.10 POZDRAVNA RIJEČ VODITELJICE / Jasna Matić

POZVANA PREDAVANJA

Predsjedavajući: Neven Sučić, Ljubica Glavaš Obrovac

17.10-17.35 Marie Culliton: BIOMEDICAL SCIENTISTS IN EUROPE: AN EMERGING PROFESSION

17.35-18.00 Merica Glavina Durdov: SUVREMENI DIJAGNOSTIČKI ZAHTJEVI U PATOLOGIJI

18.00-18.25 Fernando Mendes: X-RAYS IN A BLADDDER CANCER AND A RETINOBLASTOMA CELL LINES (N. Oliveira, A.L. Santos, S. Pires, P. Teixeira, R. Santo, A.M. Abrantes, A.C. Gonçalves, C. Rocha, P.C. Simões, M.F. Botelho, F. Mendes)

18.25-18.50 Dunja Rogić: POSLIJEANALITIČKA FAZA - NOVI IZAZOV LABORATORIJSKE DIJANOSTIKE

18.50-19.00 RASPRAVA

19.00 PROMOCIJA KNJIGE / Marija Čuljak, Ankica Bojčić: FLEBOTOMIJA - PRIMARNI UZORCI U MEDICINSKOM LABORATORIJU

20.00 OTVARANJE KONGRESA I KOKTEL DOBRODOŠLICE

PETAK, 8. lipnja 2018.

STUDENTSKA SEKCIJA

Predsjedavajući: Domagoj Caban, Ljubica Glavaš Obrovac, Magdalena Perić

09.00-10.00 Kristina Knežević: ORGANIZACIJA JAVNE BANKE KRV IZ PUPKOVINE ANA RUKAVINA, NAŠE DESETOGODIŠNJE ISKUSTVO (K. Knežević, I. Leskovar, L. Feher Turković)

Petra Posavec: PRIMJENA METODE STANIČNIH BLOKOVA U DIJAGNOSTICI ASCITESA (P. Posavec, I. Seili-Bekafigo)

Predsjedavajući: Ankica Bojčić, Katja Puljčan, Dunja Rogić

POZVANO PREDAVANJE

10.00-10.25 Maja Tomičić : FETALNA I NEONATALNA ALOIMUNA TROMBOCITOPENIJA (FNATP): POSTUPNIK LABORATORIJSKOG ISPITIVANJA

10.25-10.40 Marija Čuljak: VAŽNOST MEDICINSKO LABORATORIJSKE
DJELATNOSTI U PROVOĐENJU KVALITETE
PREDANALITIČKE FAZE LABORATORIJSKOG PROCESA

10.40-10.55 Nedeljka Šljivo: TUMORSKI MARKER HE4 - ODREĐIVANJE
REFERENTNIH VRIJEDNOSTI KOD ŽENSKJE POPULACIJE
KANTONA SARAJEVO (L. Hasanbegović, N.Šljivo)

10.55-11.05 RASPRAVA

11.05-11.25 PAUZA ZA KAVU

Predsjedavajući: Neven Sučić, Sanja Kuštreba, Maja Tomičić

POZVANO PREDAVANJE

11.25-11.50 Magdalena Perić: POLIMORFIZMI GENA TOLL-LIKE RECEPTORA
2 I 4 KOD OBOLJELIH OD KRONIČNOG HEPATITISA C

11.50-12.05 Gabrijelel Begić: FOTOINAKTIVACIJA MIKROORGANIZAMA
NOVOSINTETIZIRANIM SPOJEM (G. Begić, A. Lesar, N. Malatesti,
I. Gobin)

12.05-12.20 Ljiljana Katičić: LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA INFLUENCE U
SEZONI GRIPE (Lj. Katičić, V. Draženović)

12.20-12.35 Natalija Miletić: MIKROBIOLOŠKA DIJAGNOSTIKA I UČESTALOST
Helicobacter pylori NA PODRUČJU ZADARSKE ŽUPANIJE
2007.-2017. godine

12.35-12.45 RASPRAVA

12.45-15.00 RUČAK

Predsjedavajući: Suzana Hančić, Jasna Matić, Marie Culliton

POZVANO PREDAVANJE

15.00-15.25 Anne Berndt: THE POSITION OF BIOMEDICAL SCIENTIST
GLOBALLY

15.25-15.40 Anita Breški: IHC ODREĐIVANJE I VAŽNOST EKSPRESIJE PDL-1
KOD KARCINOMA PLUĆA (A. Breški, O. Poljak)

15.40-15.55 Maja Banović: EKSPRESIJA PROTEINA ZA POPRAVAK DNA KOD
KOLOREKTALNIH KARCINOMA U OŽB VINKOVCI
(M. Banović, K. Mesić)

15.55-16.10 Silvia Arbanas: OD DAKTILOSKOPIJE DO MOLEKULARNE IDENTIFIKACIJE KROZ PRIKAZ SLUČAJA

(S. Arbanas , V. Stemberga, A. Ferenčić, I. Šoša, D. Cuculić)

16.10-16.25 Sandra Šlegl: VRIJEDNOST ODREĐIVANJA MORFOLOGIJE ERITROCITA U CITOLOŠKOM RAZMAZU PERIFERNE KRVI

(S. Šlegl, S. Kojić Katović)

16.25-16.35 RASPRAVA

16.35-17.20 PAUZA ZA KAVU

17.20-19.00 *RAZGLEDAVANJE POSTERA*

20.00 RAZGLEDAVANJE GRADA AUTOBUSOM

20.00 GORNJOGRADSKOJE COPRNICE

21.00 TAJNE GRIČA

SUBOTA, 9. lipnja 2018.

9.00-10.00 *RAZGLEDAVANJE POSTERA*

Predsjedavajući: Marija Čuljak, Mirica Batarelo, Fernando Mendes

POZVANO PREDAVANJE

10.00-10.25 Petra Korać: HRVATSKO NAZIVLJE MOLEKULARNE I STANIČNE BIOLOGIJE (P. Korać, A. Vraneša, B. Petrović, M. Pavlica)

10.25-10.40 Zrinka Mirković: FARMAKOGENETIKA I INDIVIDUALIZACIJA TERAPIJE (Z. Mirković, M. Mezak Herceg, L. Šimićević, L. Ganoci, N. Božina)

10.40-10.55 Katarina Marija Tupek: HRM - MOLEKULARNA ANALIZA TALJENJA VISOKE REZOLUCIJE (K.M. Tupek, K. Rajko)

10.55-11.10 Mirela Vranić: PRIMJENA BOJENJA X-GAL U RAZJAŠNJAVANJU MEHANIZAMA RAZVOJA GOVORA ČOVJEKA (M. Vranić, M. Ćurlin, T. Maričić, S. Pääbo)

11.20-11.30 PAUZA

11.30-13.00 *OKRUGLI STOL*

13.00-14.00 RUČAK

14.00-15.00 *ZNANSTVENI ODBOR - OCJENJIVANJE RADOVA*

20.00 SVEČANA VEČERA, RESTORAN VINODOL

Sadržaj

BIOMEDICAL SCIENTISTS IN EUROPE: AN EMERGING PROFESSION	13
SUVREMENI DIJAGNOSTIČKI ZAHTJEVI U PATOLOGIJI.....	14
X-RAYS EFFECTS IN A BLADDER CANCER AND A RETINOBLASTOMA CELL LINES	15
POSILIJEANALITIČKA FAZA – NOVI IZAZOV LABORATORIJSKE DIJAGNOSTIKE	17
FETALNA I NEONATALNA ALOIMUNA TROMBOCITOPENIJA (FNATP): POSTUPNIK LABORATORIJSKOG ISPITIVANJA	19
POLIMORFIZMI GENA TOLL-LIKE RECEPTORA 2 I 4 KOD OBOLJELIH OD KRONIČNOG HEPATITISA C ...	21
THE POSITION OF BIOMEDICAL LABORATORY SCIENTIST GLOBALLY	22
HRVATSKO NAZIVLJE MOLEKULARNE I STANIČNE BIOLOGIJE.....	23
VAŽNOST MEDICINSKO LABORATORIJSKE DJELATNOSTI U PROVOĐENJU KVALITETE PREDANALITIČKE FAZE LABORATORIJSKOG PROCESA	25
TUMORSKI MARKER HE4 - ODREĐIVANJE REFERENTNIH VRIJEDNOSTI KOD ŽENSKE POPULACIJE KANTONA SARAJEVO	26
FOTOINAKTIVACIJA MIKROORGANIZAMA NOVOSINTETIZIRANIM SPOJEM	28
LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA INFLUENCE U SEZONI GRIPE.....	29
MIKROBIOLOŠKA DIJAGNOSTIKA I UČESTALOST <i>HELICOBACTER PYLORI</i> NA PODRUČJU ZADARSKE ŽUPANIJE 2007.-2017. GODINE	30
IHC ODREĐIVANJE I VAŽNOST EKSPRESIJE PDL-1 KOD KARCINOMA PLUĆA.....	31
EKSPRESIJA PROTEINA ZA POPRAVAK DNA KOD KOLOREKTALNIH KARCINOMA U OŽB VINKOVCI.....	32
OD DAKTILOSKOPIJE DO MOLEKULARNE IDENTIFIKACIJE KROZ PRIKAZ SLUČAJA	33
VRIJEDNOST ODREĐIVANJA MORFOLOGIJE ERITROCITA U CITOLOŠKOM RAZMAZU PERIFERNE KRV	34
FARMAKOGENETIKA I INDIVIDUALIZACIJA TERAPIJE.....	35
HRM – MOLEKULARNA ANALIZA TALJENJA VISOKE REZOLUCIJE	36
PRIMJENA BOJENJA X-GAL U RAZJAŠNJAVANJU MEHANIZMA RAZVOJA GOVORA ČOVJEKA	37
ORGANIZACIJA JAVNE BANKE KRV IZ PUPKOVINE ANA RUKAVINA, NAŠE DESETOGODIŠNJE ISKUSTVO	38
PRIMJENA METODE STANIČNIH BLOKOVA U DIJAGNOSTICI ASCITESA	39
THALLIUM CONCENTRATION IN EAST CROATIA - RESULTS OF SOIL, WATER, HAIR AND URINE SAMPLES STUDY	41
DETERMINATION OF ARSENIC IN HAIR SAMPLES USING ICP-MS IN DIFFERENT AREAS OF SLAVONIA.	42
ZNAČAJ ODREĐIVANJA HUMANOG KORIONSKOG GONADOTROPINA KOD PACIJENATA S KARCINOMOM TESTISA.....	43

USPOREDBA ELISA I CLIA METODA ZA ODREĐIVANJE KONCENTRACIJE.....	44
ALDOSTERONA U PLAZMI.....	44
ULOGA AKREDITIRANOG LABORATORIJA U SMANJENJU PRIJEANALITIČKIH POGREŠAKA	45
LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA GRAVESOVE BOLESTI	46
VERIFIKACIJA EPRUVETA	47
VERIFIKACIJA I USPOREDBA DVIJU METODA ZA ODREĐIVANJE GLIKIRANOG HEMOGLOBINA (HbA1c)	48
VAŽNOST LABORATORIJSKE DIJAGNOSTIKE KOD BOLESTI ŠTITNJAČE.....	50
KRATKA VERIFIKACIJA IMUNOTURBIDIMETRIJSKE METODE ROCHE TINA-QUANT HbA _{1c} GEN. 3 NA ANALITIČKOM SUSTAVU ROCHE COBAS INTEGRA 400 PLUS	52
KRATKA VERIFIKACIJA METODE ZA ODREĐIVANJE PARATIREOIDNOG HORMONA NA ANALITIČKOM SUSTAVU ADVIA CENTAUR-XP.....	53
UPALNI BILJEK C REAKTIVNI PROTEIN (CRP) U PRETILE DJECE.....	54
PROTOČNOCITOMETRIJSKA DIJAGNOSTIKA KRONIČNE GRANULOMATOZNE BOLESTI	55
AUTOMATIZIRANA DKS KAO SIGNAL ZA PROMJENJENU MORFOLOGIJU LEUKOCITA	56
ODREĐIVANJE 17-OHP U SERUMU NOVOROĐENČADI I DJECE DO 6 MJESECI STAROSTI – POSTUPAK UKLANJANJA METABOLITA U KRIŽNOJ REAKCIJI METODE S LIGANDIMA.....	58
ODREĐIVANJE KONCENTRACIJE FEKALNOG KALPROTEKTINA U BOLESNIKA S UPALNIM I NEUPALNIM BOLESTIMA CRIJEVA	59
PRIKAZ SLUČAJA: PRAĆENJE VRIJEDNOSTI PROKALCITONINA U SLUČAJU DOJENAČKE SEPSE	60
USPOREDBA METODA BEZ I S DODATKOM PIRIDOKSAL-FOSFATA ZA MJERENJE AKTIVNOSTI AMINOTRANSFERAZA NA UREĐAJU <i>ROCHE COBAS 6000</i>	61
PROCJENA AUTOMATSKOG ANALIZATORA ROLLER20PN.....	62
DIJAGNOSTIČKA VAŽNOST ANALIZE PLEURALNOG IZLJEVA KOD BOLESNIKA S PNEUMONIJOM I KARCINOMOM PLUĆA.....	63
ODREĐIVANJE KONCENTRACIJE KARCINOEMBRIONALNOG ANTIGENA KOD ZDRAVIH DOBROVOLJACA, PUŠAČA I NEPUŠAČA, NA IMUNOKEMIJSKOM ANALIZATORU ROCHE COBAS E 411	64
ODREĐIVANJE KONCENTRACIJE KLOORIDA U KRVU KAO POKAZATELJA UTAPANJA U MORSKOJ ILI SLATKOJ VODI	65
DOKAZIVANJE AUTOANTITIJELA NA GLATKU MUSKULATURU METODOM IIF U DIJAGNOSTICI AUTOIMUNOG HEPATITISA.....	66
ODREĐIVANJE ANTITIJELA NA MPO, PR3 I GBM ANTIGENE IMUNOBLOT I LUMINEX METODOM	67
FUNGALNI BIOMARKERI U KLINIČKOM BOLNIČKOM CENTRU ZAGREB	68
ANALIZA REZULTATA DETEKCIJE HUMANIH PAPILOMA VIRUSA (HPV) METODAMA MOLEKULARNE DIJAGNOSTIKE U PERIODU 2014. - 2016. GODINE U KBC OSIJEK.....	69
MIKROBIOLOŠKA DIJAGNOSTIKA IZOLATA BHS-B U TRUDNICA U OSJEČKO-BARANJSKOJ ŽUPANJI	70

PREVALENCIJA KRVLUJU PRENOSIVIH VIRUSA NAKON UBODNOG INCIDENTA KOD ISPITANIKA U ISTARSKOJ ŽUPANIJI.....	71
BIOLOŠKA KONTROLA STERILIZACIJE U NASTAVNOM ZAVODU ZA JAVNO ZDRAVSTVO PRIMORSKO-GORANSKE ŽUPANIJE.....	72
EPIDEMIOLOGIJA I OSJETLJIVOST <i>S.pyogenes</i> U OSJEČKO-BARANJSKOJ ŽUPANIJI U PERIODU 2012.-2017. GODINE.....	73
DIJAGNOSTIČKI PRISTUP <i>CLOSTRIDIUM DIFFICILE</i> INFEKCIJAMA.....	74
KNOWLEDGE ON SEXUALLY TRANSMITTED DISEASES IN PROFESSIONALS OF A PORTUGUESE HOSPITAL.....	75
ODREĐIVANJE BROJA TRIPLETA CTG U MOLEKULARNOJ DIJAGNOSTICI MIOTONIČNE DISTROFIJE TIPA 1 KAPILARNOM ELEKTROFOREZOM	76
DIJAGNOSTIKA MIKRODELECIJSKIH SINDROMA.....	77
THE ROLE OF <i>BIRC5</i> POLYMORPHISMS AND SURVIVIN GENE EXPRESSION IN OVARIAN CANCER	79
UČESTALOST KROMOSOMSKIH PROMJENA KOD PACIJENATA SA	81
NEUROBLASTOMOM	81
FARMAKOGENETIKA STATINA	82
ATIPIČNE GLANDULARNE STANICE U PAPA-RAZMAZU.....	83
ULOGA BIOMARKERA p16/Ki 67 U DIJAGNOSTICI CITOLOŠKIH ABNORMALNOSTI U OBRISCIMA CERVIKSA.....	84
PATOHISTOLOŠKA OBRADA TRANSPLANTIRANOG BUBREGA	85
EXPRESSION OF FORSSMAN AND CANCER	86
TO BE IgM+IgG OR NOT TO BE IgG – ANTIBODIES ANTI FORSSMAN.....	87
TELEFONSKA KOMUNIKACIJA NA CENTRALNOM PRIJEMU II HRVATSKOG ZAVODA ZA TRANSFUZIJSKU MEDICINU.....	88
PATIENT BLOOD MANAGEMENT	89
MOGUĆOST USPOREĐIVANJA LABORATORIJSKIH REZULTATA U PRAĆENJU KONCENTRACIJE PROLAKTINA U SERUMU PACIJENATA	90
POGREŠKE U IMUNOHEMATOLOŠKOJ DIJAGNOSTICI DOBROVOLJNIH DARIVATELJA KRVI (DDK)	91
USPOREDBA METODA ANALIZE KRIVULJE TALJENJA VISOKE REZOLUCIJE (HRM) I KRIVULJE TALJENJA POMOĆU FRET HIBRIDIZACIJSKIH PROBA ZA DETEKCIJU INSERCIJE TA U PROMOTORU GENA <i>UGT1A1</i>	92
UČINCI BENZIMIDAZOLA NA STANIČNI CIKLUS TUMORSKIH STANICA.....	94
UTVRĐIVANJE MOGUĆEG MUTAGENOG UČINKA MONOMETINSKIH.....	95
CIJANINSKIH DERIVATA	95
ANALIZA RAZINE EKSPRESIJE PROTEINA GAPDH, Akt i p53 U STANICAMA IZLOŽENIM N-SULFONILUREAMA METODOM WESTERN BLOT	96
UČESTALOST RIJETKIH GENA SUSTAVA HLA U SPLITSKO-DALMATINSKOJ ŽUPANIJI.....	97

POZVANA PREDAVANJA / INVITED LECTURES

BIOMEDICAL SCIENTISTS IN EUROPE: AN EMERGING PROFESSION

Marie Culliton

European Association for Professions in Biomedical Science

Who are the Biomedical Scientists in Europe, what qualifications do they have and what do they do?

The answers to these simple questions are, sadly, not simple. For the 1st part we have a good understanding of the current entry level qualifications. This is the level that regulators control. The scope of practice of Biomedical Scientists may, or may not, be controlled. It is not clear what functions are reserved for Biomedical Scientists nor if there is a prescribed role for Biomedical Scientists with post graduate qualifications. The lack of opportunity for dedicated Masters in Biomedical Science throughout Europe led to the development of the Marble project spearheaded by EPBS.

A survey undertaken by the European Association for Professions in Biomedical Science (EPBS), using google forms as tool, of its 21 county members examined the numbers of Biomedical Scientists and Qualifications to practice.

We found that for 20 countries with a population of 428 million inhabitants there are 254,504 Biomedical Scientists or an average of 828 Biomedical Scientists / 1million inhabitants. This number varies depending on the country with a range of 350 to 1300 / 1 million. The higher ratio tends to be seen in Nordic countries where the Biomedical Scientists have a broader scope of practice.

The entry level qualification to practice is Bachelors (180 to 240 ECTS) for 17 of the 20 countries with the remaining 3 being secondary or post-secondary level. A permit or licence to practice is required in 15 of the 20 countries and this is provided by government, regulator or the Professional Body.

70 % clinical decisions are based on the results of a diagnostic test yet this accounts for 2% of the healthcare budget. This presentation will also consider the different ways in which Biomedical Scientist can and do add value to healthcare and the opportunities to increase that value through collaboration. In countries where there are career opportunities for Post Graduate Biomedical Scientists new horizons are emerging.

SUVREMENI DIJAGNOSTIČKI ZAHTJEVI U PATOLOGIJI

Merica Glavina Durdov

Klinički zavod za patologiju, sudsku medicinu i citologiju KBC Split

Imunohistokemija je patologiju učinila još egzaktnijom dijagnostičkom djelatnošću jer je uz konačnu dijagnozu (osobito zloćudnih tumora) omogućila određivanje prediktivnih i prognostičkih čimbenika.

Dijagnostički zahtjevi u našoj službi su svakim danom veći, zahvaljujući paradigmi individualizirane terapije koja se oslanja na izražaj određenih biljega u tkivu. Molekularna dijagnostika genskih mutacija, sama ili usmjerena iz rezultata imunohistokemije, nastavlja zadani algoritam te je rezultat analize sastavni dio patološkog nalaza.

Cilj predavanja je pokazati suvremenu patološku dijagnostiku najčešćih zloćudnih tumora s korištenjem imunohistokemijskog algoritima, kako bi se naši prvi suradnici – visokoeducirani djelatnici laboratrijske medicinske dijagnostike s njima upoznali i razumjeli taj odabir.

Rezultat zajedničke suradnje je donošenje točne dijagnoze na optimalno obrađenom uzorku, u skladnom i dinamičnom radnom procesu.

X-RAYS EFFECTS IN A BLADDER CANCER AND A RETINOBLASTOMA CELL LINES

N. Oliveira³, A.L. Santos³, S. Pires^{2,5}, P. Teixeira², R. Santo⁴, A.M. Abrantes^{2,5}, A.C. Gonçalves¹, C. Rocha⁶, P.C. Simões⁷, M.F. Botelho^{2,5}, F. Mendes^{3,5}

¹*Applied Molecular Biology and Clinical University of Hematology, Faculty of Medicine, University of Coimbra, Coimbra, Portugal*

²*Biophysics Institute-CNC.IBILI, Faculty of Medicine, University of Coimbra, Azinhaga Santa Comba, Celas, 3000-548 Coimbra, Portugal*

³*Department Biomedical Laboratory Sciences, ESTESC- Coimbra Health School, Polytechnic Institute of Coimbra, Coimbra, Portugal*

⁴*Faculty of Sciences and Technology, University of Coimbra, Coimbra, Portugal*

⁵*Institute for Clinical and Biomedical Research (iCBR) area of Environment Genetics and Oncobiology (CIMAGO), Faculty of Medicine, University of Coimbra, Coimbra, Portugal*

⁶*Institute for Systems Engineering and Computers at Coimbra, Coimbra, Portugal*

⁷*Radiation Oncology Department, Centro Hospitalar Universitário de Coimbra, Coimbra, Portugal*

Preamble

Cancer is the set of diseases that have in common the loss of cellular proliferation control. Bladder cancer (BC) is the ninth most frequently diagnosed cancer worldwide. The urothelial carcinoma represents 90% of the bladder tumours and has two sub-categories: superficial (nonmuscle invasive) and muscle invasive forms. The retinoblastoma (RB) is the most common intraocular cancer in childhood representing 4% of all pediatric malignancies. The BC and RB treatment requires a multidisciplinary approach, being radiotherapy a therapeutic option.

Goal of the study

The aim of this work was to study the effect of ionizing radiation (IR) on viability and proliferation of a BC (HT1376) and a Y79-GPF-luc human RB cell line, as well as the radiation effects in cell cycle and cell death.

Methods

HT1376 and Y79-GPF-luc cells were cultured and exposed to increasing doses from 0 Gy (control) to 12 Gy of X-rays. Cell viability and proliferation were assessed by trypan blue exclusion assay and Ki-67 expression through immunocytochemistry. Cell survival was determined by clonogenic assay, that also allowed the calculation of half lethal dose (LD₅₀). Cell cycle and cell death were assessed by flow cytometry, as well as by optical microscopy.

Results

X-radiation induced cytotoxic and antiproliferative effects, in a dose and time-dependent way for both cell lines. LD₅₀ was determined after adjusted to the linear-quadratic model of cell aggression, being for Y79-GFP-luc cells of 1.21 Gy and for HT1376 cells of 3.09 Gy, presenting a higher radioresistance than the previous ones. We observed that higher doses of IR caused a decrease of Ki-67 expression and a cell cycle arrest in G2/M phase for both cell lines. The predominant type of cell death observed was necrosis for HT1376 cells and apoptosis or later apoptosis/necrosis for Y79-GFP-luc cells.

Conclusions

Our results showed that IR induces a cytotoxic and anti-proliferative effects, conducting cell to die by apoptosis and necrosis and a cell cycle arrest in G2/M phase in both cell lines.

The anti-tumour effect promoted by radiotherapy in BC and RB by inhibiting tumor cell growth, may contribute to the optimization of the current treatments with a reduction of the side effects, in combination with an increase of patient's survival.

Keywords: Bladder cancer, Retinoblastoma, radiotherapy, clonogenic assay, cell death.

POSLIJEANALITIČKA FAZA - NOVI IZAZOV LABORATORIJSKE DIJAGNOSTIKE

Dunja Rogić

Klinički bolnički centar Zagreb, Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku

Razmišljajući o povijesti laboratorijske medicine moguće je zapaziti da se u prošlim vremenima zbivalo više spontanijih poslijeanalitičkih aktivnosti – ponekad jednostavno zato jer su u zapravo isti ljudi provodili laboratorijske pretrage i zatim se koristili rezultatima pretraga u provedbi skrbi za bolesnika. Sljedeća uobičajena pojava bila je fizička blizina između laboratorija i klinika, što je omogućavalo česte osobne kontakte i rasprave. Putovanje kroz vrijeme dovodi nas do današnjih visoko automatiziranih i informatiziranih kliničkih laboratorija koji rijetko dijele arhitektonski prostor s kliničkim odjelima; baš suprotno tome, laboratoriji se mogu nalaziti u sljedećoj zgradi, sljedećem gradu ili čak županiji. Uzorci za analize dostavljaju se na velikim udaljenostima, a rezultati pretraga objavljuju se i primaju preko interneta. Posljedica toga jest da suvremeni laboratorijski stručnjaci imaju malo ili nimalo znanja o načinu na koji se rezultati pretraga koriste. S kliničkog stajališta, komunikacija s laboratorijem postala je neosobna te se stoga često i ne događa. Stoga se postavlja pitanje kako premostiti taj očigledan jaz koji se danas zbiva u poslijeanalitičkoj fazi, pri čemu su rezultati točni i dostavljeni na vrijeme, no nitko ne može do kraja biti siguran je li se pravilno koriste. Izobrazba o korištenju laboratorijskih pretraga poput predavanja i pasivne podjele edukacijskih materijala pokazala se u konačnici nedovoljnom (1,2). Jedna od mogućnosti jest da laboratorij proaktivno uključi kliničare putem ispitivanja osmišljenih kao prikazi slučajeva. Prvi su takav korak učinili Thue i sur. (3) koji su pregledali kako liječnici opće prakse (OP) klinički procjenjuju vrijednosti hemoglobina. S obzirom na to da je to laboratorijska pretraga koju liječnici OP najčešće traže, očekivalo se da će tumačenje rezultata biti uglavnom jednoliko i ispravno, tj. uzeti u obzir barem učinak biološke, ako ne i analitičke varijacije. Ta je studija, međutim, pokazala da su liječnici skloni gledati referentne vrijednosti više nego što iste zaslužuju, a na drugu stranu nedovoljno cijeniti vrijednost longitudinalnog praćenja bolesnika. Razmatrajući aktivnosti liječnika OP navedene u ispitivanju čini se vrlo mogućim da su promjene, koje su smatrane dovoljno velikima da bi se na njih reagiralo, bile zapravo prouzročene samo analitičkom i biološkom varijacijom. Ista je skupina autora provela sličnu studiju koja je obuhvaćala liječnike OP i brzinu sedimentacije eritrocita (ESR) (4). Tumačenje rezultata ESR-a bilo je još raznolikije nego za hemoglobin te se tako pokazalo da se promjena od 10 mm/h često smatrala važnom iako je za takvu malu promjenu poznato da je uglavnom izazvana neizbježnim izvorima varijacije. Prva međunarodna studija vanjske procjene poslijeanalitičke kvalitete, usmjerena na liječnike OP iz sedam različitih zemalja, provedena je s anamnezama slučajeva koje su uključivale tumačenje vrijednosti glukoze i hemoglobina A1C kao primarnih pretraga u obradi šećerne bolesti (5). U povratnim informacijama koje su poslani liječnicima OP nakon završetka ispitivanja naglašena je važnost vrste uzorka (kapilarna krv u odnosu na vensku plazmu) kod tumačenja rezultata za glukozu, kao i najmanji postotak promjene vrijednosti hemoglobina A1C koji odgovara

kritičnoj razlici. Studija u koju je bilo uključeno devet europskih zemalja, a koja se usredotočila na mikroalbuminuriju (6), otkrila je velike varijacije između liječnika OP s obzirom na shvaćanje kritičnih razlika, preporučenog uzorkovanja urina, te prihvaćanja drugih mogućih uzroka mikroalbuminurije prije postavljanja dijagnoze. Jedno ispitivanje, usmjereno na poslijeanalitičku procjenu praćenja terapije varfarinom naznačilo je znatne varijacije u praksi, osobito u vezi s učestalosti testiranja INR te procjenjivanja umjereno visokih rezultata (7).

Možemo zaključiti da studije zasnovane na prikazima slučajeva predstavljaju vrlo potreban aktivan korak prema poboljšanju poslijeanalitičke faze (8), no njihov dugotrajan učinak tek treba ustanoviti.

Literatura:

1. Jantiedt G, Young YM, Kristoffersen DT et al. Audit and feedback: effects on professional practice and health care outcomes. Cochrane review, Cochrane Library 2005; 3
2. Grimshaw JM, Thomas RE, MacLeman G et al. Effectiveness and efficiency of guideline dissemination and implementation strategies. Health Technology Assessment, 2004;8:6
3. Thue G, Sandberg S, Fugelli P. Clinical assessment of hemoglobin values by general practitioners related to analytical and biological variation. Scand J Clin Lab Invest 1991;51:453-459
4. Thue G, Sandberg S, Fugelli P. The erythrocyte sedimentation rate in general practice: clinical assessment based on case histories. Scand J Clin Lab Invest 1994;54:291-300
5. Skeie S, Perich C, Ricos C et al. Postanalytical External Quality Assessment of Blood Glucose and Hemoglobin A_{1c}: An International Survey. Clin Chem 2005;51:1145-1153
6. Aakre KM, Thue G, Subramaniam-Haavik S et al. Postanalytical External Quality Assessment of Urine Albumin in Primary Health Care: An International Survey. Clin Chem 2008;54:1630-1636
7. Kristoffersen AH, Thue G, Sandberg S. Postanalytical External Quality Assessment of Warfarin Monitoring in Primary Healthcare. Clin Chem 2006;52:1871-1878
Hallworth MJ. The 70% claim – what is the evidence base? Ann Clin Biochem 2011;48:487-8.

FETALNA I NEONATALNA ALOIMUNA TROMBOCITOPENIJA (FNATP): POSTUPNIK LABORATORIJSKOG ISPITIVANJA

M. Tomičić

Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu, Odjel za trombocitnu i leukocitnu dijagnostiku i hemostazu, Zagreb, Hrvatska

Uvod: Fetalna i neonatalna aloimuna trombocitopenija (FNATP) je klinički sindrom, koji nastaje zbog nepodudarnosti trombocitnih antigena (HPA) koje je fetus naslijedio od oca, a nisu prisutni na majčinih trombocitima. Procjenjuje se da se FNATP javlja u 1-2 slučaja na 1-5 000 živorođene djece. U 20-59% slučajeva se FNATP opaža u prvorodene djece. Bolest je slična hemolitičkoj bolesti novorođenčeta uzrokovanoj aloimunizacijom na eritrocitne antigene. U teškim oblicima bolesti udruženim s pojavom intrakranijalnog krvarenja, može imati i smrtni ishod. Sumnja na NATP postavlja se kada je u novorođenčeta nakon poroda prisutna neobjašnjena izolirana trombocitopenija (najčešće od $10 \times 10^9/L$ do $30 \times 10^9/l$). Broj trombocita u majčinoj krvi obično je normalan. 80-90% FNATP uzrokovano je anti-HPA-1a protutijelima. Anti-HPA 5a su druga protutijela prema učestalosti, dok se protutijela ostalih specifičnosti rijetko nalaze.

Cilj: Za konačnu potvrdu dijagnoze nužno je učiniti laboratorijsko serološko ispitivanje za FNATP, kojim se dokazuju specifična trombocitna protutijela IgG razreda u serumu majke, koja su transplacentarno prešla u krvotok djeteta i vezala se na fetalne/neonatalne trombocite.

Metode i rezultati: Algoritam laboratorijskog ispitivanja za FNATP u Hrvatskom zavodu za transfuzijsku medicinu obuhvaća probirno serološko ispitivanje antitrombocitnih protutijela u uzorku krvi majke i djeteta/oca, određivanje HPA specifičnosti prisutnih aprotutijela, HPA genotipizaciju majke i djeteta/oca, određivanje titra protutijela, odabir trombocita za transfuziju i tumačenje rezultata.

Uzorci krvi za laboratorijsko ispitivanje FNATP: Uzorak krvi majke/oca; 6 mL krvi uzete na EDTA i 10 mL krvi bez antikoagulansa. Uzorak krvi djeteta; 3 mL krvi uzete na EDTA. Uzorak krvi djeteta potreban je samo za pregledna ispitivanja, a sva dodatna ispitivanja rade se iz uzorka krvi majke/oca. U serološkoj dijagnostici FNATP potrebno je primijeniti metode koje imaju najbolju osjetljivost i specifičnost. Za probirno serološko ispitivanje antitrombocitnih protutijela primjenjuje se enzimsko-imunološka metoda imobilizacije trombocitnih glikoproteina pomoću monoklonskih protutijela (MAIPA, monoclonal antibody immobilization of platelet antigens, *engl*) u vidu direktnog i indirektnog testa. Za određivanje HPA specifičnosti aprotutijela i PAK 12-PLUS EIA kit i Luminex-multiplex, PAK Lx kit, Lifecodes. Indirektni MAIPA test koristi se za križnu probu između trombocita oca i seruma/plazme majke i određivanje titra anti-HPA protutijela. Za određivanje trombocitnih antigena majke i djeteta/oca primjenjuje se molekularna metoda (HPA genotipizacija): polimerazna lančana reakcija sa začetnicama specifičnim za sekvencu (PCR-SSP, polymerase chain reaction-sequence specific primers, *engl*).

Zaključak: Iako je bolest rijetka, težina kliničke slike i posljedice povezane s krvarenjem u središnji živčani sustav nalažu ranu serološku laboratorijsku dijagnostiku. Primjena algoritma

za laboratorijsko ispitivanje FNATP znatno doprinosi pravovremenoj potvrdi dijagnoze i specifičnom liječenju ove bolesti.

Ključne riječi: Fetalna i neonatalna aloimuna trombocitopenija (FNATP), humani trombocitni antigeni (HPA), anti-HPA aloprotutijela, test imobilizacije trombocitnih glikoproteina pomoću monoklonskih protutijela (MAIPA)

POLIMORFIZMI GENA TOLL-LIKE RECEPTORA 2 I 4 KOD OBOLJELIH OD KRONIČNOG HEPATITISA C

M. Perić

Zavod za javno zdravstvo Osječko-baranjske županije, Služba za mikrobiologiju, Osijek, Hrvatska

Patogeneza kroničnog hepatitisa C (KHC) uključuje cirozu i karcinom jetre koja se ne dovodi u vezu samo s neučinkovitosti antivirusne terapije ovisne o genotipu virusa već i s imunološkim odgovorom. Određeni su rizični čimbenici prijenosa HCV-a, koncentracije protutijela na HCV, aktivna virusna replikacija, virusni genotip i genske varijante za toll-u sličnim genima (TLR) 2 i 4. Visoka učestalost KHC-a utvrđena je u dobnoj skupini od 31-40 godina starosti kod muškaraca, a kod žena u dobnoj skupini od 51-60. KHC se dovodi u svezu s transfuzijom krvi i operativnim zahvatom prije 1993. godine, mišićnom boli, gubitkom apetita, intravenskim uzimanjem droge, tetovažom i body piercingom. Najučestaliji genotip HCV-a je genotip 1 dok genotipovi 5 i 6 nisu nađeni. AG- i CT-genske varijante TLR 4 gena u odnosu na druge genske varijante pokazuju smanjeni učinak antivirusne terapije.

Ključne riječi: genski polimorfizam, hepatitis C virus, TLR 2, TLR 4

THE POSITION OF BIOMEDICAL LABORATORY SCIENTIST GLOBALLY

Anne Berndt

President Elect, International Federation of Biomedical Laboratory Science (IFBLS)

Biomedical laboratory scientists are at the forefront of the technological revolution and add value to patient healthcare by being experts in the latest technologies and applications. Beyond expertise in methodology, biomedical laboratory scientists assure quality of analyses and test results and thereby help assure patient safety. The International Federation of Biomedical Laboratory Science (IFBLS) is an independent, non-governmental, global federation of national societies and associations representing more than 185,000 biomedical laboratory scientists worldwide, and its mission is to increase recognition and contributions of Biomedical Laboratory Science to improve global health. IFBLS is a non-state actor in official relations with the World Health Organization (WHO). Through collaboration with WHO, IFBLS has been given an opportunity to be the global voice of the profession giving statements for the WHO Executive Board, contribute to the development of new WHO guidelines as well as revision of existing guidelines and documents, all adding to the recognition of Biomedical Laboratory Scientists and our contribution to healthcare. The IFBLS Guidelines for Core Competence for Biomedical Laboratory Scientist describe the core set of competences expected of a biomedical laboratory scientist and the IFBLS Guidelines for Core Curriculum define a core set of theories expected from the education of a biomedical laboratory scientist. The definition of Core Competences for Biomedical Laboratory Scientist include a thorough understanding of the fundamentals of biomedical processes and the process of medical decision-making, thus promoting the autonomous and independent role biomedical laboratory scientists are to hold in the laboratory, in its management and leadership and towards other healthcare professionals. IFBLS has been working toward a new classification of biomedical laboratory scientists in the International Standard Classification of Occupation (ISCO). A proper classification is essential to enable global standardisation of the workforce with regard to education and training and recognition of our significant contribution to local and global healthcare and to allow recognition of biomedical laboratory scientists in WHO publications, as well as in national policies and statistics based on ISCO. The biomedical laboratory scientist is an important link to other healthcare professionals and the public for the use of safe and appropriate diagnostic testing. A major challenge in many countries today is a shortage of qualified biomedical laboratory scientists which may threaten patient safety, laboratory standards and quality. Taken as a whole, when the competencies and skills of biomedical laboratory scientists are applied to their full extent, the profession has a significant effect on equal healthcare for all.

HRVATSKO NAZIVLJE MOLEKULARNE I STANIČNE BIOLOGIJE

Petra Korać¹, Ana Vraneša², Bernardina Petrović³, Mirjana Pavlica¹

¹ Zavod za molekularnu biologiju, Biološki odsjek, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Horvatovac 102a, 10 000 Zagreb

² Ministarstvo kulture, Runjaninova 2, 10 000 Zagreb

³ Katedra za hrvatski standardni jezik, Odsjek za kroatistiku, Filozofski fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Ivana Lučića 3, 10 000 Zagreb

Hrvatski standardni jezik prolazi kroz razdoblja širenja i rasta na temelju potrebe proizašle iz društvenih promjena, tehnološkoga razvoja i globalizacije. U području strukovnoga nazivlja ta je potreba posebno izražena, no prati je i česta pojava zaobilaženja potrebnih preduvjeta i stvaranja vlastitih termina koji unutar zatvorenih profesionalnih zajednica često prerastaju u žargonizme. Razvoj i usustavljanje hrvatskoga leksika molekularne i stanične biologije, s posebnim naglaskom na segmentu genetike, značajna je perspektiva očuvanja hrvatskoga jezika, razvoja znanstvene komunikacije i obrazovanja budućih naraštaja stručnjaka ovoga područja. Na Zavodu za molekularnu biologiju Biološkoga odsjeka Prirodoslovno-matematičkoga fakulteta Sveučilišta u Zagrebu započeta su zbog toga dva projekta vezana uz strukovno nazivlje. Njihov je cilj na jednome mjestu okupiti najvažnije pojmove i sustavno razrađeno hrvatsko nazivlje molekularne i stanične biologije. Na temelju višegodišnje suradnje jezikoslovaca i biologa ovim izlaganjem želimo pružiti uvid u nekoliko osnovnih zaključaka koje stručnjaci i znanstvenici mogu primijeniti u svome svakodnevnom radu bez obzira na područje biologije koje je u njihovu fokusu. Poseban naglasak izlaganja stavljen je na učestalo, i vrlo rasprostranjeno, pogrešno korištenje simboličkih imena DNA i RNA kao i pogrešno korištenje pridjeva „genski“, „genetski“, „genomski“ i „genetički“.

Ključne riječi: genetika, molekularna i stanična biologija, hrvatsko nazivlje

PREDAVANJA / LECTURES

VAŽNOST MEDICINSKO LABORATORIJSKE DJELATNOSTI U PROVOĐENJU KVALITETE PREDANALITIČKE FAZE LABORATORIJSKOG PROCESA

Marija Čuljak

Klinički zavod za kemiju Medicinskog i Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, KBC Sestre milosrdnice, Zagreb

UVOD: Predanalitički postupak u medicinsko-laboratorijskoj dijagnostici započinje zahtjevom za provođenje laboratorijske analize biološkog materijala. Sukladno Zakonu o djelatnostima u zdravstvu, medicinsko-laboratorijska djelatnost obuhvaća sve postupke, znanja i vještine kliničke biokemije, laboratorijske hematologije, bakteriologije, parazitologije, virologije, mikologije, imunologije, histopatologije, citologije, transfuziologije, molekularne medicine, humane genetike, toksikologije, citogenetike, forenzične medicine, nuklearne medicine i tipizacije tkiva.

60-80 % liječničkih odluka utemeljeno je na rezultatima laboratorijske dijagnostike. Rezultati laboratorijske dijagnostike koriste se u dijagnosticiranju bolesti, praćenju tijeka bolesti, liječenju, a također u izobrazbi i istraživanju. Kad liječnik interpretira laboratorijsku pretragu, taj rezultat postaje nalaz. Liječnik očekuje kvalitetan i pouzdan nalaz, koji će biti klinički koristan, pravodoban i informativan.

Prema istraživanjima, 60% laboratorijskih pogrešaka događa se u predanalitičkoj fazi laboratorijskog procesa. Izuzetno je važno da pacijent ili korisnik laboratorijskih usluga dobije ispravnu informaciju o načinu pripreme i izvođenja laboratorijske pretrage. Sve informacije o laboratorijskoj pretrazi moraju biti jasne i interpretirane na način da ih pacijent ili korisnik razumije. Stoga je bitno da je laboratorijski djelatnik dobro educiran o svim fazama laboratorijskog rada kako bi se smanjile pogreške i mogući gubici.

ZAKLJUČAK: Nove dijagnostičke metode, kliničko-laboratorijska tehnologija i automatizirani instrumenti uvelike su povećali potražnju za medicinsko laboratorijskim ispitivanjima. Nezaobilazan član svakog laboratorijskog sustava je medicinsko laboratorijski djelatnik koji u timu sa liječnikom čini važnu kariku cjelokupnog sustava. Uspostavom kvalitete predanalitičke faze, osiguravamo preduvjete za ispravan uzorak za laboratorijsku pretragu, a time i očekivani krajnji ishod, vjerodostojan nalaz.

Ključne riječi: medicinsko laboratorijska djelatnost, kvaliteta, predanalitička faza laboratorijskog procesa

TUMORSKI MARKER HE4 - ODREĐIVANJE REFERENTNIH VRIJEDNOSTI KOD ŽENSKE POPULACIJE KANTONA SARAJEVO

L. Hasanbegović¹, N. Šljivo²

¹PZU BIH Medicinski laboratorij, Sarajevo, Bosna i Hercegovina; ²Komora medicinsko-laboratorijskih dijagnostičara F BiH, Sarajevo, Bosna i Hercegovina

Uvod: Karcinom jajnika ima najveću stopu smrtnosti od svih ginekoloških tumora i peti je vodeći uzrok smrti od karcinoma kod žena, a razlog toga je izostanak ranih simptoma bolesti i nedostatak screening testova. Novi biomarker HE4 za karcinom jajnika je kod različitih istraživača, različitih populacija imao dosta različite vrijednosti osjetljivosti i specifičnosti, kao i referente vrijednosti. HE4 je posebno obećavajući kao marker za ranu detekciju, gdje pokazuje svoj potencijal u diferencijaciji žena s tumorom jajnika od onih s benignim (nemalignim) ovarijskim stanjima.

Cilj studije: 1. Odrediti vrijednosti tumorskog markera HE4 ispitanicama urednog ginekološkog nalaza životne dobi od:

- 50 do 75 godina (postmenopauza).
- 20 do 50 godina (premenopauza).

2. Na osnovu dobivenih vrijednosti utvrditi referentne vrijednosti za populaciju žena Kantona Sarajevo.

Materijal i metode: Tokom istraživanja obuhvaćeno je ukupno 300 ispitanica od kojih je 188 žena premenopauzalno i 112 žena postmenopauzalno. Ispitanice su podijeljene u dvije grupe prema dobi: Ispitanice dobi 50-75 godina i Kontrolna grupa ispitanica dobi 20-50 godina. Postupak određivanja HE4 je izvođen Imunološkim testom (ECLIA) za kvantitativno određivanje HE4 u humanom serumu ili plazmi. Test čvrste faze, reakcija u dva koraka pomoću imuno 2HP i 3HD8 monoklonalnim protutijelima („sendvič princip“).

Rezultati: Analizom tumorskog markera HE4 po grupama u postmenopauzalnoj grupi bilo je 92 (82,14%) ispitanice sa normalnim vrijednostima tumorskog markera HE4, a u premenopauzalnoj grupi 170 (90,43%) ispitanica. Povišenih vrijednosti tumorskog markera HE4 u postmenopauzalnoj grupi bilo je 20 (17,86%), a u premenopauzalnoj grupi 18 (9,57%). Statističkom analizom (neparameterska metoda) utvrđene su gornje granice referentne vrijednosti tumorskog markera HE4 kod premenopauzalnih i postmenopauzalnih žena.

Zaključak: Utvrđena referentna vrijednost za populaciju žena u Kantonu Sarajevo za premenopauzalne žene iznosi $<78,6$ pmol/l, a za postmenopauzalne žene $<122,5$ pmol/l.

Ustanovili smo da se vrijednosti tumorskog markera HE4 statistički značajno razlikuju kod premenopauzalnih i kod postmenopauzalnih žena ($p=0,0391$). Kod postmenopauzalnih žena je veća učestalost pojavljivanja visokih vrijednosti tumorskog markera HE4.

Poređenjem referentnog intervala tumorskog markera HE4 za populaciju žena Kantona Sarajevo, utvrđenog našim istraživanjem, sa referentnim intervalom za njemačku i azijsku populaciju ustanovili smo je značajna razlika gornje granice referentne vrijednosti kod postmenopauzalnih žena ($p<0,05$), dok kod premenopauzalnih žena razlika nije statistički značajna ($p=0,4314$).

Ključne riječi: HE4, tumorski marker, karcinom jajnika, referentne vrijednosti

FOTOINAKTIVACIJA MIKROORGANIZAMA NOVOSINTETIZIRANIM SPOJEM

G. Begić¹, A. Lesar^{1,2}, N. Malatesti³, I. Gobin¹

SAŽETAK

Uvod: Fotodinamička protumikrobna terapija predstavlja novi pristup u borbi s patogenim mikroorganizmima. Kombiniranjem netoksičnog fotosenzibilizatora sa vidljivim svjetlom određene valne duljine i kisikom, stvara se singletni kisik ($^1\text{O}_2$) i slobodni radikali koji oštećuju mikrobne stanice i dovode do njihove smrti. S obzirom na sve češću pojavu legioneloza, unatoč provođenju protuepidemijskih mjera, potrebno je razviti nove metode za uklanjanje legionele iz vode.

Cilj studije: U ovom radu prikazat će se djelovanje novosintetiziranog amfipatskog porfirina, molekulske formule $\text{C}_{62}\text{H}_{71}\text{Cl}_3\text{N}_8\text{O}$ (TMPyP3- $\text{C}_{17}\text{H}_{36}$) na *Legionella pneumophila* te usporediti s djelovanjem komercijalno dostupnog fotosenzibilizatora metilen plavo kako bi utvrdili njihovu potencijalnu primjenu kao protumikrobnog agensa za uklanjanje legionele iz vode.

Metode: Određivane su minimalne efektivne koncentracije (MEK) navedenih fotosenzibilizatora u vodi, mikrodilucijskom metodom. Korišteno je ljubičasto svjetlo ukupne doze svjetla 12 J cm^{-2} . Kao kontrole korištene su bakterije bez spoja i osvjetljavanja te bakterije i spoj bez osvjetljavanja.

Rezultati: Ispitivani porfirini pokazali su različito antibakterijsko djelovanje protiv Gram-negativne bakterije, *L. pneumophila*. Minimalna efektivna koncentracija novog amfipatskog porfirina TMPyP3- $\text{C}_{17}\text{H}_{36}$ iznosila je $0,024 \mu\text{M}$, dok je spoj metilen plavo pokazao znatno višu vrijednost, $3,125 \mu\text{M}$ potrebnu za inhibiciju ove bakterije u vodi. Rezultati kontrole bakterije i spoja, bez svjetla iznosili su za TMPyP3- $\text{C}_{17}\text{H}_{36}$ $1,56 \mu\text{M}$, a za metilen plavo $25 \mu\text{M}$.

Zaključak: Ispitivani novosintetizirani porfirin je pokazao antimikrobno djelovanje i bez izlaganja svjetlu. S obzirom na to da nakon svjetlosne aktivacije ima znatno snažnije djelovanje pokazuje potencijal za primjenu u dezinfekciji vode. Potrebna su daljnja ispitivanja kako bi se utvrdilo da je fotodinamička terapija potencijalna alternativa za antibiotike na koje bakterije u sve većem postotku stvaraju otpornost.

Ključne riječi: protumikrobna fotodinamička terapija, *Legionella pneumophila*, porfirin

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

² BIOINSTITUT d.o.o, Rudolfa Steinera 7, Čakovec, Hrvatska

³ Odjel za biotehnologiju, Sveučilište u Rijeci, Radmile Matejčić 2, 51000 Rijeka, Hrvatska

LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA INFLUENCE U SEZONI GRIPE

Lj. Katičić, V. Draženović

Hrvatski zavod za javno zdravstvo, Odjel molekularne dijagnostike s jedinicom za interventnu dijagnostiku, Nacionalni centar za influencu, Zagreb, Hrvatska

Uvod: Influenca ili gripa teška je akutna lako prenosiva bolest dišnog sustava prouzročena virusima influence u zimskim mjesecima u obliku manjih ili većih epidemija. Genom influence A i B sadrži jednolančanu negativnu RNA od 8 segmenata. Na temelju površinskih antigena glikoproteina hemaglutinina (H) i neuraminidaze (N), virusi influence A se dijele u 16 H i 9 N podtipova. Nestalni su, neprestano mijenjaju svoja antigenska svojstva pa tako nastaju mutacije virusa te mogu prouzročiti velike epidemije i pandemije, te pojavu teških oblika bolesti s brojnim komplikacijama. Tijekom svake sezone gripe (tjedni 40-20) ECDC, WHO/Europe prikuplja tjedne epidemiološke i virološke podatke nadzora iz 53 zemlje u europskoj regiji, tako i iz našeg nacionalnog centra za influencu (NIC).

Cilj: Cilj je prikazati laboratorijsku dijagnostiku virusa influence u protekle tri sezone gripe u NIC, pojasniti važnost što brže izolacije virusa, subtipizaciji sa RT-PCR, te slanju pozitivnih izolata iz kulture stanica i 11 dana starog pilećeg zametka u London koji je kolaboracijski centar (WHO CC), kako bi se proizvela vakcina za sljedeću sezonu.

Materijali i metode: Materijali su uzeti brisevi nosa, grla, nazofarinksa, aspirati, ispirci ljudi sa kliničkim simptomima gripe u prva tri dana bolesti a metode su izravni fluorescentni test (DFA), molekularna dijagnostika RT-PCR, izolacija tj. izdvajanje virusa u kulturi stanica (MDCK) i oplodnim kokošjim jajima, test inhibicije hemaglutinacije (HAI) sa WHO/CDC reagens kitom koji se svake godine dostavlja u NIC.

Rezultati: Rezultati su obrađeni po tjednom izvješću. U sezoni gripe 2015/16 od 3384 uzoraka i 1529 pozitivnih subtipizacija (1400 A i 129 B) dominantan virus je pandemijski A/H1N1/pdm09 (57,4%), sezonska A/H3 42,6% , a od B linije B Victoria (71,3 %). U prošloj sezoni 2016/17 od 3819 obrađenih uzoraka 90,4% imalo je gripu tipa A. Subtipizacijom (920 A i 150 B) dokazano prevladavala sezonska gripa A/H3 93,4%, a od tipa B linija B Yamagata 66,6%. U ovoj sezoni gripe 2017/18 koja još uvijek traje (obrađeni podaci od 40 tjedna 2017 godine do 12 tjedna 2018 godine) od zaprimljenih 5094 uzoraka 48,52% (2472/5094) je pozitivno, prevladava gripa tipa B 63,7% (1574/2472) linije B Yamagata 96,97% (288/297). Od influence tipa A 51,44% (89/173) je sezonska A/H3 i 48,56% (84/173) pandemijska influenza. Kako je sezona počela ranije sa dominacijom B linije ranije su u London poslani izolati (24 izolata, prošlih sezona 16)

Zaključak: Influenca je danas jedina infekcija koja masovno prijete čovječanstvu u obliku pandemije. Prati ju veliki morbiditet i mortalitet uz velike ekonomske gubitke. Zato je važno stalno pratiti zbivanja s virusom influence i prikupljati podatke o mogućim antigenim promjenama virusa.

Ključne riječi: sezona gripe, laboratorijska dijagnostika

MIKROBIOLOŠKA DIJAGNOSTIKA I UČESTALOST *HELICOBACTER PYLORI* NA PODRUČJU ZADARSKE ŽUPANIJE 2007.-2017. GODINE

Natalija Miletić

Zavod za javno zdravstvo Zadar

Helicobacter pylori je Gram negativni spiralno zavijeni štapić koji se može izolirati iz ljudskog želuca. Uzrokuje gastritis, peptički vried te neke vrste malignih oboljenja. Čovjek se zarazi oralnim putem, a bakterija svrdlastim kretanjem dolazi do epitelnih stanica želuca, adherira na njih ili uđe u mukozni sloj. Preživljava u niskom pH želuca tako da lučenjem ureaze alkalizira sluz i štiti se od razaranja želučanom kiselinom. Uspješno se dokazuje neinvazivnim dijagnostičkim metodama u čemu pomaže i njegova produkcija ureaze, iako je dokaz živog mikroorganizma, za što se materijal uzima invazivnim putem, ponekad neophodan za uspješno liječenje.

Cilj rada je spoznati koliko je bila uspješna eradikacijska terapija protiv *H.pylori* na području Zadarske županije u desetogodišnjem razdoblju, od 2007. do 2017.godine. Nadalje, cilj je također saznati koliko je bila učinkovita izolacija i kultivacija žive bakterije dobivene biopsijom, tj. je li ona bila uspješnija prije deset godina ili posljednjih nekoliko godina. Ispitivanje osjetljivosti na antimikrobne lijekove i njihovu učinkovitost, tj. na koje su se ispitivane lijekove javljale rezistencije 2007. godine, a na koje 2017. godine.

U radu se statistički obrađuju i grafički prikazuju podaci o uzorcima bioptata želuca pacijenata koji su zaprimljeni u Službu za mikrobiologiju Zavoda za javno zdravstvo Zadar u ispitivanih 10 godina. Također se obrađuju i podaci o dokazu *H.pylori* antigena, pretrage za koju se uzorak dobiva neinvazivnim putem.

Pregledom i obradom podataka otkriveno je da se mali broj pacijenata vraća zbog ponovljenog testiranja na spomenutu pretragu.

Ponekad izolacija iz bioptata želuca nije uspješna. Jedan od najvažnijih razloga neuspješne izolacije jest vrlo zahtjevna i dugotrajna kultivacija bakterije *H. pylori* te prethodno korištenje antimikrobne terapije koja sprečava bakterijski rast *in vitro*, ali ne postiže željeni učinak eradikacije mikroorganizma. Nakon uspjele izolacije i ispitivanja na antimikrobne lijekove, pacijenti se uspješno liječe.

Ključne riječi: *H.pylori*, kultivacija, uspješnost terapije

IHC ODREĐIVANJE I VAŽNOST EKSPRESIJE PDL-1 KOD KARCINOMA PLUĆA

Anita Breški, Ozrenka Poljak

KBC Zagreb, Klinički Zavod za patologiju i citologiju, Zagreb, Hrvatska

Uvod Posljednih godina klinička istraživanja su pokazala da je imunoterapijom moguće postići duže preživljenje bolesnika kod NSCLC; adenokarcinoma i karcinoma pločaste diferencijacije blokirajući aktivaciju PD-1/PDL-1 signalnog puta primjenjujući anti PD-1 i antiPDL-1 protutijela. Vezanje liganda PDL-1 za receptor PD-1 na T stanicama inhibira proliferaciju T stanica i proizvodnju citokina i dopušta imunosupresiju tumorskog rasta.

Cilj studije Ekspresija PDL-1 proteina se procjenjuje na površini tumorskih stanica. Općenito, veća ekspresija PDL-1 korelira sa boljim odgovorom, a time i boljem cjelokupnom preživljavanju.

Metode Ekspresija PDL-1 određuje se imunohistokemijski na tumorskom tkivu te je od velike važnosti odabir klona protutijela, te patološka analiza IHC preparata. Danas je dostupno više dijagnostičkih testova PDL-1 za različite platforme koji pokazuju dobre rezultate i to: klon SP263 Ventana te klon 22C3 Dako.

PDL-1 IHC 22C3 pharmaDX je kvalitativni imunohistokemijski test koji upotrebljava monoklonski mišji anti-PDL-1, klon 22C3 za otkrivanje protein PDL-1 u tkivu karcinoma pluća nemalih stanica (NSCLC) fiksiranima u formalinu uklopljenima u parafin.

Osim toga veliku važnost ima i odabir uzoraka tkiva. Najbolji materijal je tumorsko tkivo dobiveno nakon resekcije tumora, a alternative su citološki blokovi.

Rezultati Patolog analizira IHC preparat uzimajući u obzir heterogenost tumora, te procjenjuju % pozitivnih tumorskih stanica; više ili manje od 50% ili je nalaz (-) negativan ako nema tumorskih stanica.

Zaključak Ekspresija PDL-1 analizirana na IHC preparatu smatra se glavnim prediktivnim biomarkerom korištenim u imunoterapiji kao novoj terapijskoj mogućnosti u liječenju NSCLC.

Ključne riječi: PDL-1, imunohistokemija, karcinomi pluća

EKSPRESIJA PROTEINA ZA POPRAVAK DNA KOD KOLOREKTALNIH KARCINOMA U OŽB VINKOVCI

Banović Maja, Mesić Katarina

Opća županijska bolnica Vinkovci, Odijel za patologiju i citologiju, Vinkovci, Hrvatska.

UVOD: Karcinom debelog crijeva zloćudna je novotvorina epitelnih stanica sluznice debelog crijeva. Kolorektalni karcinom zbog svoje povećane stope rasta predstavlja sve važniji dijagnostički i terapijski problem. Prema učestalosti karcinom debelog crijeva u ženskoj populaciji nalazimo na drugom, dok kod muške populacije zauzima treće mjesto. U posljednjih trideset godina incidencija i smrtnost karcinoma debelog crijeva u stalnom je porastu. Lynch sindrom uzrokuje mutacija u jednom od četiri MMR gena: MLH1, MSH2, MSH6, PMS2. Oko 90 % pacijenata imaju mutacije i MLH1 i MSH2 gena.

CILJ ISTRAŽIVANJA: Cilj studije je istražiti ekspresiju proteina za popravak DNA te učestalost kolorektalnog karcinoma u OŽB Vinkovci za razdoblje od 1.5.2016. do 31.12.2017.

MATERIJALI I METODE: Analizirani su podaci 106 novodijagnosticiranih kolorektalnih karcinoma sa imunohistokemijski ispitanom ekspresijom proteina za popravak DNA s Odijela za patologiju i citologiju OŽB Vinkovci, u razdoblju od svibnja 2016. godine do prosinca 2017.godine.

REZULTATI : Od 106 nalaza biopsija, 74 su muškarca (70%) i 32 (30%) žena. Raspon dobi oboljelih pacijenata je od 47 do 89 godina. S obzirom na status mikrosatelitske nestabilnosti pacijenti su podijeljeni u dvije skupine, MSS (mikrosatelitski stabilni karcinomi) te MSI (mikrosatelitski nestabilni karcinomi). Grupi MSS karcinoma pripada 97 (91%) pacijenata, a grupi MSI karcinoma 9 (9%) pacijenata. Patohistološki, 98 (93%) pacijenata imalo je adenokarcinom , a mucinozni adenokarcinom 8 (7%) pacijenata. Prema ekspresiji proteina za popravak DNA, uočena je MLH1 mutacija zametne linije kod 7 pacijenata, MSH2 mutacija zametne linije kod 1 pacijenta i PMS2 mutacija zametne linije kod 1 pacijenta.

ZAKLJUČAK: Rezultati provedenog istraživanja ukazuju na potrebu daljnjih istraživanja i povećanje svijesti populacije na odaziv pozivu Nacionalnog programa za rano otkrivanje karcinoma debelog crijeva.

Ključne riječi: imunohistokemija; kolorektalni karcinom; mikrosatelitska nestabilnost; proteini za popravak DNA

OD DAKTILOSKOPIJE DO MOLEKULARNE IDENTIFIKACIJE KROZ PRIKAZ SLUČAJA

Silvia Arbanas, Valter Stemberga, Antun Ferenčić, Ivan Šoša, Dražen Cuculić

Uvod: daktiloskopija je općeprihvaćena biometrijska znanstvena metoda koja pomaže u sudskomedicinskoj praksi pri brznoj identifikaciji preminulih osoba za koje se ne može obaviti identifikacija na drugi način. Pojednostavljeno, radi se o fizičkom i pravnom dokazivanju identiteta osoba na temelju papilarnih linija; prvenstveno na prstima, dlanovima i tabanima. 1906. godine daktiloskopija je postala rutinska metoda identifikacije. Međutim, u novije vrijeme razvitkom molekularnih metoda, ona postaje dijelom forenzičkih tehnika koje pomažu u utvrđivanju identiteta.

Cilj: prikazati primjer iz sudskomedicinske prakse u kojem je daktiloskopija kao klasična metoda identifikacije bila nedostatna, te se pristupilo molekularnoj analizi u cilju rješavanja slučaja.

Prikaz slučaja: po pronalasku ljudskog prsta u središtu Rijeke policija je, nakon obavljenog očevida prst dostavila na Zavod za sudsku medicinu i kriminalistiku. U histološkom laboratoriju prst je rehidriran (subkutano je injiciran razrijeđeni glicerol), čime je omogućeno daktiloskopiranje. Otisak je fotografiran i po digitalnoj obradi označen kao kvalitetan za pregled u bazi automatiziranog sustava za identifikaciju otisaka prstiju. Identitet na ovaj način nije utvrđen, pa je zaključeno da prst pripada osobi koja nije osumnjičena za počinjenje kaznenog djela, odnosno daktiloskopirana za desetoprstnu zbirku otisaka. Specijalist sudske medicine na temelju antropoloških obilježja ustanovio je da se radi o četvrtom prstu lijeve ruke (tzv. prstenjaku) muške mlađe osobe koji je najvjerojatnije odrezan nekim oštrim predmetom. Budući da nije bilo moguće usporediti otisak sa monodaktiloskopskom zbirkom (u kojoj su otisci kažiprsta desne ruke svih punoljetnih hrvatskih građana), postupak identifikacije ostao je neuspješan. Istovremeno s istragom vezanom uz pronalazak prsta u Rijeci, u Karlovcu se istraživao slučaj pronalaska mrtve mlađe muške osobe poznatog identiteta. Pregledom mrtvog tijela utvrđeno je da nedostaje prstenjak lijeve šake. Nakon toga u Centru za forenzična ispitivanja, istraživanja i vještačenja „Ivan Vučetić“ u Zagrebu obavljena je molekularna analiza u cilju identifikacije, te je utvrđen DNA profil prstenjaka pronađenog u Rijeci koji je podudaran sa DNA profilom osobe pronađene u automobilu u Karlovcu. Time je potvrđena istovjetnost prsta i osobe.

Zaključak: daktiloskopija, kao ekonomična i dovoljno pouzdana klasična metoda identifikacije, u sudskomedicinskoj praksi definitivno ima neosporno mjesto i u određenim slučajevima daje brzi podatak o identitetu. Na taj način omogućava pravovremeno kriminalističko istraživanje usmjereno prema ispravnim, znanstveno utemeljenim i konkretnim ciljevima. Međutim, u jedinstvenim slučajevima poput ovog iz naše prakse, daktiloskopska identifikacija nije dostatna, te se provodi i molekularno vještačenje analizom DNA.

Ključne riječi: daktiloskopija, identifikacije, sudska medicina

VRIJEDNOST ODREĐIVANJA MORFOLOGIJE ERITROCITA U CITOLOŠKOM RAZMAZU PERIFERNE KRVI

S. Šlegl, S. Kojić Katović

KBC “Sestre milosrdnice”, Klinički zavod za patologiju i citologiju “Ljudevit Jurak”,
Zagreb, Hrvatska

UVOD: Citološki razmaz periferne krvi je razmaz u kojem se analiziraju stanice pojedinih krvnih loza. Najčešće ga indiciraju kliničari, u screeningu hematoloških bolesti, postavljanju dijagnoze ili praćenju liječenja. Za analizu morfologije stanica u razmazu periferne krvi neophodno je imati tehnički kvalitetan razmaz kojim se dobiju informacije o broju i izgledu krvnih stanica. Određivanje morfologije eritrocita bitno je za dijagnozu naslijednih poremećaja crvene loze, raznih vrsta anemija, poremećaja koagulacije, infekcija, trovanja te mijelodisplastičnih i mijeloproliferativnih bolesti i dr.

CILJ rada je ukazati na važnost određivanja morfologije eritrocita u razmazu periferne krvi.

METODA: Kapljica krvi, dobivena iz prsta pacijenta nakon dezinfekcije i uboda tankom iglom, kapne se na predmetno staklo i razvuče pod kutem od 45 stupnjeva. Preparati se suše na zraku i nakon toga bojaju po MayGrunwald Giemsa (MGG) metodi bojanja te se analiziraju pod svjetlosnim mikroskopom. Uz diferenciranje leukocita, promatra se izgled svih triju hematoloških krvnih loza.

REZULTATI: Nakon bojanja preparata po MGG-u promatrani su veličina eritrocita, različiti oblici eritrocita, prisutnost nezrelih stadija sazrijevanja eritrocita, obojenje eritrocita, eritrocitne inkluzije te rouleaux formacije eritrocita. Također je analiziran udio pojedinih vrsta leukocita i promjene na njima te izgled trombocita.

ZAKLJUČAK: Unatoč prisutnosti i razvoju drugih dijagnostičkih metoda, uključujući genetska i molekularna testiranja, citološki razmaz periferne krvi i dalje je neizostavni dio u dijagnostici, prvenstveno hematoloških bolesti, posebno anemija i promjena na eritrocitnoj lozi.

KLJUČNE RIJEČI: citologija, razmaz periferne krvi, morfologija eritrocita

FARMAKOGENETIKA I INDIVIDUALIZACIJA TERAPIJE

Z. Mirković, M. Mezak Herceg, L. Šimičević, L. Ganoci, N.Božina

Klinički bolnički centar Zagreb, Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku Medicinskog fakulteta sveučilišta u Zagrebu, Klinički odjel za farmakogenomiku i individualizaciju terapije, Zagreb, Hrvatska

Danas davne 1931. godine je prvi put predložena hipoteza o mogućnosti utjecaja genetičkih varijanti na različit odgovor na primjenu pojedinih lijekova, te su prva zabilježena takva ispitivanja provedena ranih 30-tih godina prošlog stoljeća. Polovicom prošlog stoljeća je prvi puta primijenjen naziv farmakogenetika te je time prepoznata kao posebno znanstveno i medicinsko područje. Od tada do danas, nova saznanja farmakogenetike su zajedno s novim znanjima molekularne dijagnostike i medicinske genetike, dovela do novog naziva farmakogenomika. Farmakogenetika/farmakogenomika ispituje ulogu genetičkog naslijeđa u učinkovitosti lijeka i njegovu povezanost s razvojem nuspojava lijekova.

Primjeri uspješne primjene farmakogenetike u kliničkoj praksi prvenstveno se odnosi na genotipizaciju enzima kao i proteina prijenosnika uključenih u metabolizam prve i druge faze lijeka. Dobri primjeri farmakogenetičkih analiza u svakodnevnoj kliničkoj praksi i njihov doprinos poboljšanju liječenja odnose se na genotipizaciju vitamin K-epoksid reduktaze i CYP2C9 sa svrhom optimalnog doziranja kumarinskih antikoagulantnih lijekova, genotipizaciju CYP2D6 kao prediktora ishoda liječenja tamoksifenom, ali i utjecaja na metabolizam kodeina, tramadola, nekih antidepresiva i antipsihotika, beta blokatora i antihipertenziva. Nadalje, genotipizacija CYP2C19 ima primjenu na doziranje klopidrogela, antidepresiva, inhibitora protonske pumpe i drugih. Genotipizacija enzima II. faze metabolizma, tiopurin S-metiltransferaze (TPMT) pomaže u predviđanju nuspoja, pri primjeni tiopurinskih lijekova, a genotipizacija dipirimidindehidrogenaze (DPYD) i UGT1A1 u predviđanju učinkovitosti i nuspojava onkoloških lijekova. Prijenosnici (transporteri) imaju važnu ulogu u prijenosu lijekova-supstrata preko različitih barijera i značajan su čimbenik varijabilne bioraspoloživosti lijekova. Mogu ubacivati supstrate u stanicu ili ih izbacivati iz stanice. Od posebnog značenja za bioraspoloživost lijekova su ABCB1, ABCC2, ABCG2, te OATP1B1. Nova saznanja o utjecaju farmakogenomike na farmakokinetiku i farmakodinamiku kod sve većeg broja lijekova potiču razvoj novih lijekova prikladnih za specifične podskupine bolesnika. Primjena farmakogenetike/ farmakogenomike u različitim terapijskim područjima može značajno pridonijeti individualiziranom pristupu u odabiru samog lijeka, predviđanju interakcija lijekova, kao i odabiru najprikladnije doze lijeka svakom bolesniku te predstavlja budućnost personalizirane medicine.

Ključne riječi: farmakogenomika, genotipizacija, personalizirana medicina

HRM – MOLEKULARNA ANALIZA TALJENJA VISOKE REZOLUCIJE

Tupek Katarina Marija, Kušec Rajko

Klinička bolnica Dubrava, Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku, Zagreb, Hrvatska

Uvod: Sekvenciranje gena zlatni je standard za detekciju mutacija, no metoda je dugotrajna i skupa. Stoga se u molekularnoj dijagnostici pojavila HRM analiza. Ova metoda temelji se na visokorezolucijskoj metodi zagrijavanja prethodno umnoženih DNA slijedova do temperature taljenja pri čemu se razdvajaju dvostruki lanaci DNA. Analiza se prati u stvarnome vremenu pomoću interkalirajućih fluorescentnih boja koje se vežu za dvostruku uzvojnica DNA tijekom umnažanja, a mutacije gena detektiraju se u promjenama krivulja taljenja.

Cilj studije: Cilj ovoga rada je objasniti temelje HRM analize kao i njezinu primjenu u dijagnostici mijeloproliferativnih neoplazmi.

Metode: Nakon izolacije DNA bolesnika s mijeloproliferativnim neoplazmama pristupilo se umnažanju lančanom reakcijom polimeraze. Nakon taljenja PCR umnožaka (HRM) uzorci su analizirani na uređaju AriaMx Real-Time PCR System (Agilent, USA).

Rezultati: Dobivene amplifikacijske krivulje, krivulje taljenja i diferencijacijske krivulje u kojima se jasno uočavaju odstupanja u odnosu na kontrolne uzorke ukazuju na prisutnost mutacija u CALR exon 9, JAK2 exon 12, MPL exon 10 i NPM1 exon 12 genu. Promjena u obliku krivulje taljenja uzrokovana je stvaranjem heterodupleksa između mutacijske DNA i DNA divljeg tipa. Krivulja taljenja heterozigota ima raniju disocijaciju i uočavamo promjenu u obliku krivulje prema nižim temperaturama. Za razliku od njih, homozigoti obično imaju pomak u temperaturi taljenja, no ne i promjenu u obliku krivulje.

Zaključak: HRM metoda je visoko osjetljiva i koristi se u molekularnoj dijagnostici za probir pacijenata kod sumnji u prisutnost određenih mutacija, čime se skraćuje vrijeme i smanjuje cijena dijagnostike.

Ključne riječi: HRM analiza, mijeloproliferativne neoplazme

PRIMJENA BOJENJA X-GAL U RAZJAŠNJAVANJU MEHANIZMA RAZVOJA GOVORA ČOVJeka

M. Vranić¹, M. Ćurlin¹, T. Maričić², S. Pääbo²

¹Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb, Hrvatska, ²Department of Evolutionary Genetics, Max Planck Institute for Evolutionary Anthropology, Leipzig, Germany

UVOD: Genetski čimbenik odgovoran za razvoj govora kod današnjeg čovjeka otkriven je istraživanjem uzroka govornog poremećaja članova “KE obitelji” u Engleskoj. Kod tih je osoba otkrivena nasljedna mutacija u genu *FOXP2* te se pokazalo da je djelovanje bjelančevine FOXP2 ključno za sposobnost govora. S obzirom da identičnu bjelančevinu FOXP2 imaju i svi sisavci, pretpostavlja se da je za evolucijski pomak u razvoju govora odgovorna regulacija djelovanja te bjelančevine. Analizom DNA otkriven je fragment DNA za koji se pretpostavlja da regulira djelovanje bjelančevine FOXP2, a razlikuje se kod današnjeg čovjeka u odnosu na sve druge vrste, pa tako i neandertalce i ostale primat. **CILJ:** Cilj ovog istraživanja je ispitati svojstva otkrivenog DNA fragmenta. U našem laboratoriju ispitivala se razlika u izražaju tog fragmenta izoliranog iz DNA današnjeg čovjeka i iz DNA neandertalca, ugrađenih u genom transgeničnih miševa.

METODE: Desetak različitih organa transgeničnih miševa s ugrađenim fragmentima DNA današnjeg čovjeka i neandertalca analizirani su postupkom histokemijskog bojenja 5-bromo-4-kloro-3-indolil β-D –galaktopiranozidom (X-gal). Tim postupkom se jasnim plavim obojenjem prikazuje mjesto u tkivu miša gdje postoji izražaj beta-galaktozidaze, markera izražaja ugrađenih fragmenata DNA. Istim postupkom analizirani su cijeli zameci transgeničnih miševa stari 11,5 i 14,5 dana.

REZULTATI: Histokemijsko bojenje tkiva transgeničnih miševa X-gal-om pokazalo je različite obrasce izražaja ugrađenih fragmenata DNA današnjeg čovjeka i neandertalca. Najizraženije bojenje bilo je prisutno u mozgu, leđnoj moždini i plućima, mjestima gdje je inače prisutan izražaj gena *FOXP2*. Dodatno, izražaj ugrađenih fragmenata DNA bio je prisutan i u jeziku, dušniku i nadbubrežnoj žlijezdi. Kod zametaka, najizraženije bojenje bilo je prisutno u spinalnim ganglijima i leđnoj moždini.

ZAKLJUČAK: Rezultati analize izražaja ugrađenih fragmenata DNA u tkivima transgeničnih miševa pridonijet će cjelokupnoj analizi svojstava otkrivenog DNA fragmenta. Ta će analiza pokazati može li se taj fragment smatrati kandidatom za ključnu selektivnu promjenu u regulaciji djelovanja bjelančevine FOXP2 i time ključnim evolucijskim faktorom za razvoj govora kod današnjeg čovjeka.

Ključne riječi: FOXP2, razvoj govora, X-gal, transgenični miš

ORGANIZACIJA JAVNE BANKE KRVI IZ PUPKOVINE ANA RUKAVINA, NAŠE DESETOGODIŠNJE ISKUSTVO

K. Knežević¹, I. Leskovar², L. Feher Turković³

¹Studij Medicinsko-laboratorijska dijagnostika, Zdravstveno veleučilište, Zagreb, Hrvatska, ² Klinički zavod za transfuzijsku medicinu i transplantacijsku biologiju, KBC Zagreb, Zagreb, Hrvatska, ³Voditeljica stručnog studija Medicinsko-laboratorijska dijagnostika, Zdravstveno veleučilište, Zagreb, Hrvatska

Uvod

Javna banka krvi iz pupkovine Ana Rukavina osnovana je 28. ožujka 2007.g. u Kliničkom zavodu za transfuzijsku medicinu i transplantacijsku biologiju Kliničkog bolničkog centra Zagreb uz potporu Zaklade Ana Rukavina. Banka je neprofitna ustanova u kojoj se pohranjuje krv iz pupkovine za opću dobrobit na principu dobrovoljnosti i anonimnosti. Javne banke su povezane u međunarodnu mrežu čime se osigurava dostupnost transplantacijskog liječenja za bolesnike širom svijeta. U nacionalnim bankama veća je mogućnost pronalaska tkivno podudarnog darivatelja jer bolje odražavaju genetske značajke naroda.

Cilj

Cilj ovog rada bio je prikazati način organizacije i razvoj Javne banke krvi iz pupkovine u prvih deset godina djelovanja.

Metode

Banka surađuje s 23 rodilišta u kojima se prikuplja krv iz pupkovine i u roku od 24 sata transportira u banku. Banka rodilištima pruža punu logističku potporu koja uključuje edukaciju osoblja, dostavu setova za uzimanje, organizaciju transporta i redovno izvješćivanje o prikupljenim pripravcima (donacijama).

Rezultati

U razdoblju od 2007. do 2017. u 23 rodilišta u Republici Hrvatskoj prikupljeno je 13 974 doze krvi iz pupkovine. U Svjetski Registar prijavljeno je 3 476 doza. Razlozi odbijanja krvi iz pupkovine najčešće su povezani uz nedovoljan broj stanica u dozi, mali volumen doze i vrijeme transporta (od uzimanja do obrade duže od 48 sati).

Zaključak

Naši rezultati upućuju na to da se stjecanjem iskustva i kontinuiranom edukacijom povećava kvaliteta prikupljenih doza krvi iz pupkovine, a kako bi povećali broj prikupljenih doza treba nastaviti s promocijom donacije krvi iz pupkovine. Za veću mogućnost izdavanja transplantata, Banka treba nastaviti raditi na dobivanju akreditacije FACT/Netcord.

Ključne riječi: krv iz pupkovine, javna banka

PRIMJENA METODE STANIČNIH BLOKOVA U DIJAGNOSTICI ASCITESA

P. Posavec¹, I. Seili-Bekafigo²

¹ Fakultet zdravstvenih studija Sveučilišta u Rijeci, Rijeka, Hrvatska, ² KBC Rijeka, Zavod za kliničku citologiju, Rijeka, Hrvatska

UVOD:

Cilj suvremene medicine je postavljanje dijagnoze iz što manjeg uzorka tkiva, dobivenog na što manje invazivan način. Citološka dijagnostika je tipičan primjer postavljanja dijagnoze iz minimalne količine uzorka, međutim ima određenih ograničenja. Jedno od njih je standardizacija i kvaliteta imunocitokemijskih bojenja. Metoda pomoću koje se to ograničenje prevladava, i koja povezuje citološku i patohistološku dijagnostiku je metoda staničnih blokova (SB).

CILJ STUDIJE:

Prikazati metodu izrade staničnih blokova iz tekućih citoloških uzoraka, uz prikaz slučaja postavljanja dijagnoze primjenom imunohistokemijskog bojenja na SB uzorka ascitesa.

METODE:

Prikaz postupka izrade SB iz sedimenta ascitesa, nakon što se citomorfološkom analizom na standardno izrađenim sedimentima obojanim po May-Gruenwald-Giemsu, utvrdi da se u sedimentu nalaze maligne stanice – korišten je arhivski materijal Zavoda za kliničku citologiju KBC Rijeka. Primjena tehnike SB u inicijalnoj dijagnostici maligne bolesti prikazana je na primjeru pacijentice koja se prezentirala ascitesom kao prvim simptomom bolesti.

REZULTATI:

Citološkom analizom utvrđena je prisutnost malignih stanica žljezdanog epitela u ascitesu. Izrađen je SB, i na njemu učinjeno imunohistokemijsko bojanje (na uređaju Ventana Zavoda za patologiju KBC Rijeka), s ciljem utvrđivanja radi li se o primarnom tumoru probavnog sustava ili ginekološkom tumoru. Imunoprofil tumorskih stanica odgovarao je seroznom karcinomu, najvjerojatnije porijekla ovarija, što je daljnjom kliničkom obradom pacijentice i potvrđeno.

ZAKLJUČAK:

Citološki uzorci prikladni su, osim citomorfološke analize uz standardna i specijalna bojenja, i za čitav niz drugih analiza (mikrobiologija, molekularne analize, citogenetika, izrada histoloških uzoraka putem staničnih blokova). Tim postupcima omogućena je minimalno invazivna precizna dijagnoza prvenstveno malignih tumora, što je osobito važno u vrijeme dostupnosti personalizirane medicine i “pametnih” lijekova.

KLJUČNE RIJEČI: citološka analiza, stanični blok, ascites, imunohistokemija

POSTER PREZENTACIJE / POSTER PRESENTATION

THALLIUM CONCENTRATION IN EAST CROATIA - RESULTS OF SOIL, WATER, HAIR AND URINE SAMPLES STUDY

M. Vidosavljević¹, V. Gvozdić², D.Puntarić³, D. Vidosavljević⁴, D. Jurić⁵

¹ Vinkovci County General Hospital, Vinkovci, ²Department of Chemistry, J.J. Strossmayer University of Osijek, Osijek, ³Croatian Catholic University, Zagreb, ⁴Faculty of Medicine, J.J. Strossmayer University, Osijek, ⁵ Institute of Public Health, Brod-Posavina County, Slavonski Brod

Introduction: Thallium (Tl) is a toxic heavy metal that exists in nature. Tl poisoning (thallotoxicosis) may occur is very rare and dangerous condition that might cause death, especially in opioid addicts. Because of its toxicity it has been used as rat poison, and due to its non-existing odor it has been considered as „poisoners poison“. Mechanism of work is by disruption of cellular mechanisms and substitution of potassium in cells. Drinking water in eastern Croatia contains high levels of elements such as arsenic, manganese and iron. However, there is lack of data about concentrations of thallium in soil and possible correlation to the population.

Aim of the study: to determine concentrations of thallium in soil, drinking water and biological samples (hair, urine) in areas and among inhabitants of Vinkovci, Vukovar and Slavonski Brod.

Methods: Inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP- MS) has been used to analyzed the concentrations of thallium in 51 soil samples from three towns (Vinkovci, Vukovar and Slavonski Brod) In order to determine potential health effect of thallium from the drinking water on population, urine and hair samples were taken from 112 examinees, all healthy volunteers that reside in area.

Results: Results of Kruskal Wallis test show existance of statistical significant differences between soil samples in Vukovar, Vinkovci ($p=0,010771$) and Slavonski Brod ($p=0,000226$). The rules on the safety of drinking water in Croatia do not define standard values for thallium; however USEPA set $2 \mu\text{g L}^{-1}$ as the maximum contaminant level for thallium. Our results from previous research have shown that there is no danger for population in east Croatia, since the thallium concentrations were very low ($1 \times 10^{-4} - 6,8 \times 10^{-3} \mu\text{g L}^{-1}$). Measured mean values of Th in urine were- Vukovar $0,161996 \mu\text{g/L}$, Vinkovci $0,163263 \mu\text{g/L}$ and S.Brod $0,190780 \mu\text{g/L}$, respectively- without statistical significance. Hair sampling result also did not show any significant differences in Kruskal Wallis test measuring – Vukovar $0,463003 \text{ ppb}$, Vinkovci $0,479246 \text{ ppb}$ and Slavonski Brod $0,497230 \text{ ppb}$.

Conclusion: Since thallium values in water and soil were bellow maximum allowed, it is safe to conclude that there is no danger from potential thallium contamination for the population.

Acknowledgement: Study is part of the Project by Ministry of Science, Education and Sports Republic of Croatia: “Investigation of long term effects of war on the health of population” (219-1080315-0288)

Keywords: Thallium, urine, hair, soil, water, ICP MS.

DETERMINATION OF ARSENIC IN HAIR SAMPLES USING ICP-MS IN DIFFERENT AREAS OF SLAVONIA

M. Vidosavljević¹, D. Puntarić², V. Gvozdić³, D. Vidosavljević⁴, M. Jergović⁵, M. Venus⁶, A. Puntarić⁷, D. Jurić⁸

¹Vinkovci County General Hospital, Vinkovci, ²Universitas Studiorum Catholica Croatica, Zagreb, ³Josip Juraj Strossmayer University Osijek, Department of Chemistry, Osijek, ⁴Faculty of Medicine Osijek, ⁵Andrija Štampar, Teaching Institute of Public Health, Zagreb, ⁶Institute of Public Health Sv. Rok, Virovitica Podravina County, Virovitica, ⁷Zagreb University, Faculty of Food Technology and Biotechnology, Zagreb, ⁸Institute of Public Health, Brod-Posavina County, Slavonski Brod

Introduction:

Problem of elevated arsenic concentrations in environment of east Croatia has been investigated for the past 15 years in Croatia, and still raises increased public attention. The eastern Croatia together with Central Hungary, Serbia and Western Romania belongs to the Pannonian Basin where higher As concentrations are existing, mainly as a geochemical property of the groundwater.

Arsenic has acute toxic effects and chronic such are “black foot disease”, cardiovascular and carcinogenic effects. It is especially toxic for uropoetic system.

Hair samples are very useful for determination of long term exposure.

Aim of the study: was to investigate long term exposure to arsenic by analysing the arsenic content in hair.

Methods: The hair samples from 507 adult examinees residing permanently were taken in following areas: Vladislavci, Čepin, Osijek, Dalj, Vukovar, Vinkovci and Slavonski Brod and analysed using ICP –MS method.

Results: Depending the investigated area, the mean concentrations ranged from 0,018 (Vinkovci) to 32 $\mu\text{g g}^{-1}$ (Vladislavci) whereby these last value, significantly exceeded the upper range of reference value (0,31 $\mu\text{g g}^{-1}$). The arsenic concentrations from Našice, Osijek, Slavonski Brod, Vukovar and Vinkovci area were within or slightly above maximum allowed reference range. Maximum As concentrations in hair samples were detected in the Vladislavci (647,60 $\mu\text{g g}^{-1}$) and Čepin (526,78 $\mu\text{g g}^{-1}$) areas.

Conclusion: Concentrations of arsenic in water samples do not suggest potential danger of acute intoxication; however, long-term effects on the health of the population should not be excluded. Further extended research should be done.

Keywords: arsenic, hair, toxicity, Croatia, ICP-MS

Acknowledgement: Study is part of the Project by Ministry of Science, Education and Sports Republic of Croatia: “Investigation of long term effects of war on the health of population” (219-1080315-0288)

ZNAČAJ ODREĐIVANJA HUMANOG KORIONSKOG GONADOTROPINA KOD PACIJENATA S KARCINOMOM TESTISA

A. Dilberović¹, A. Milčić¹, A. Polić², M. Zec³

¹Opća bolnica Dubrovnik, Odjel za laboratorijsku dijagnostiku, Dubrovnik, Hrvatska, ²Opća bolnica Dubrovnik, Odjel za patologiju i citologiju, Dubrovnik, Hrvatska, ³Klinički bolnički centar Split, Centar za transfuzijsku medicinu, Split, Hrvatska

Uvod: Karcinom testisa najčešći je karcinom kod muškaraca u dobi od 20 do 40 godina s učestalošću od 2 do 2,5 na 100.000 muškaraca. Prema podacima Hrvatskog registra za rak 2014. incidencija karcinoma testisa u Hrvatskoj je 9,4 na 100.000 stanovnika, odnosno 194 bolesnika godišnje. Karcinome testisa možemo podijeliti na seminome i neseminome. Ovakva podjela proistekla je iz kliničkih podataka koji su pokazali visoku radiosenzitivnost seminoma. Neseminomski karcinomi su agresivniji te se češće nego seminomi uklanjaju operativnim zahvatom. Uloga humanog korionskog gonadotropina (hCG) kao tumorskog markera trofoblastnih neoplazmi i karcinoma germinativnih stanica danas je od velikog značaja.

Cilj studije: Cilj ovog rada bio je ispitati vrijednosti hCG kod pacijenata sa seminomskim i neseminomskim karcinomom testisa.

Metode: Ispitivanje je uključilo 10 muškaraca, medijan godina 30 (18-58), s potvrđenom dijagnozom karcinoma testisa. Vrijednosti izmjerenih koncentracija hCG prikupljene su iz arhive Odjela za laboratorijsku dijagnostiku Opće bolnice Dubrovnik te potom interpretirane u skladu s ostalom medicinskom dokumentacijom. Metoda istraživanja bila je retrospektivna deskriptivna analiza. U svih ispitanika koncentracija hCG mjerena je iz seruma na analizatoru Cobas e411 (Roche Diagnostics, Mannheim, Njemačka) metodom elektrokemiluminiscencije.

Rezultati: Ispitanici su podijeljeni u dvije skupine. Jednu su skupinu činili pacijenti s neseminomskim karcinomom testisa (N=7), a drugu pacijenti sa seminomskim karcinomom testisa (N=3). Koncentracije hCG u svih pacijenata prve skupine pri postavljanju dijagnoze bile su povišene te se bilježio porast vrijednosti do operativnog zahvata i/ili kemoterapije nakon čega je došlo do pada vrijednosti hCG ispod granice detekcije metode (LOD; <0.1 IU/L). Drastičan pad, hCG = <0.1 IU/L, uočen je i kod pacijenta kojem je predoperativno koncentracija hCG dosegla milijunske vrijednosti, hCG = 2015590 IU/L. U drugoj skupini u dva pacijenta koncentracije hCG bile su pri postavljanju dijagnoze i postoperativno ispod granice detekcije metode dok je kod jednog koncentracija hCG pri postavljanju dijagnoze bila povišena, hCG = 67.8 IU/L. Uvidom u medicinsku dokumentaciju vidljivo je da je pacijent imao metastaze na retroperitonealnim limfnim čvorovima. Nakon operativnog zahvata izmjerena koncentracija hCG je bila ispod granice detekcije metode.

Zaključak: hCG se pokazao kao pouzdan tumorski marker u dijagnostici i praćenju karcinoma testisa. Svi pacijenti s neseminomskim karcinomom testisa imali su visoke vrijednosti hCG do operativnog zahvata i/ili kemoterapije dok je u pacijenata sa seminomskim karcinomom testisa koncentracija hCG od same dijagnoze bila ispod granice detekcije metode.

Ključne riječi: karcinom testisa, humani korionski gonadotropin, retrospektivna analiza

USPOREDBA ELISA I CLIA METODA ZA ODREĐIVANJE KONCENTRACIJE ALDOSTERONA U PLAZMI

Eliza Bašić, Ivana Vladilo, Merica Aralica

Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku, KBC Rijeka, Hrvatska

Uvod: Određivanje aldosterona (ALD) u krvi korisno je u probiru primarnog ili sekundarnog aldosteronizma. Koncentracije ALD u biološkim uzorcima moguće je odrediti imunokemijskim metodama te metodom tekućinske kromatografije s masenom spektrometrijom.

Cilj ovog rada bio je usporedba komercijalne ELISA kita (od eng. Enzyme Linked Immuno Sorbet Assay) proizvođača Demeditec Diagnostics GmbH (Kiel, Njemačka) i CLIA kita (od eng. Chemiluminescence immunoassay) proizvođača IDS (Liege, Belgija) dakle dviju imunokemijskih metoda za određivanje koncentracije ALD u plazmi.

Materijali i metode: Koncentracije ALD određene su u 28 uzoraka K 2 -EDTA plazme iz krvi uzete za rutinsku analizu u siječnju 2018. Svi uzorci pohranjeni su na -20 0 C. Prvi put pohranjeni uzorci otopljeni su neposredno prije izrade ELISA na instrumentu Thunderbolt (potpuno automatizirani ELISA procesor; GSD, Španjolska) u siječnju 2018. Drugi ciklus otapanja istih uzoraka bio je u veljači 2018. Tada je koncentracija ALD određena CLIA metodom na imunokemijskom instrumentu IDS-ISYS (IDS, Pouilly en Auxois, Francuska). Sve analize napravljene su u Kliničkom zavodu za laboratorijsku dijagnostiku, KBC Rijeka. Statistička obrada rezultata dobivenih imunokemijskim metodama učinjena je Passing-Bablok regresijskom analizom.

Rezultati: Passing-Bablok regresijskom analizom dobivena je jednadžba $y = -31,0 + 1,5x$ (95% CI iznosio je od -103,1 do 11,02 za odsječak, a za nagib pravca 95%CI iznosio je od 1,07 do 2,10) uz $P = 0,58$ za Casum test linearnosti.

Zaključak: Usporedba koncentracija ALD u plazmi dobivenih ELISA i CLIA metodom na navedenim automatiziranim uređajima ukazuje prisustvo proporcionalne pogreške i širokog raspona intervala pouzdanosti za odsječak, što ograničava nesmetano istovremeno korištenje obje metode u rutinskom radu.

Ključne riječi: aldosteron, ELISA, CLIA

ULOGA AKREDITIRANOG LABORATORIJA U SMANJENJU PRIJEANALITIČKIH POGREŠAKA

E. Šarlija¹, S. Sabljak¹, M. Sekol,¹ S. Božićević¹, M.M. Kardum Paro¹, S. Perkov¹

¹Klinička bolnica Merkur, Klinički zavod za medicinsku biokemiju i laboratorijsku medicinu, Zagreb, Hrvatska

UVOD: Prijeanalitički procesi su najkomplexniji i najpodložniji pogreškama, a najveći potencijal za poboljšanje predstavljaju prijeanalitički procesi koji se odvijaju izvan laboratorija. **CILJ:** Kroz analizu harmoniziranih prijeanalitičkih indikatora kvalitete (QI) definiranih u okviru "Modela indikatora kvalitete (engl. Model of Quality indicators, MQI), Međunarodne federacije za kliničku kemiju i laboratorijsku medicinu (engl. International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, IFCC): provesti ocjenu prijeanalitičkih procesa u Kliničkom zavodu za medicinsku biokemiju i laboratorijsku medicinu (KZMBLM) Kliničke bolnice "Merkur", akreditiranom prema normi ISO 15189:2012.

METODE: Analiza je obuhvatila 6 prijeanalitičkih indikatora kvalitete KZMBLM-a u 2017 godini: Postotak broja neodgovarajuće označenih zahtjeva /ukupan broj zahtjeva (engl. Percentage of: Number of misidentified requests/ Total number of requests, Pre-MisR), Postotak broja neodgovarajuće označenih uzoraka /ukupan broj uzoraka (engl. Percentage of: Number of misidentified samples/ Total number of samples, Pre-MisS), Postotak broja hemoliziranih uzoraka s koncentracijom hemoglobina iznad 0,5 g/L detektiran vizualnim pregledom /ukupan broj uzoraka provjerenih na hemolizu (engl. Percentage of Number of samples with free haemoglobin (Hb)>0,5 g/L detected by visual inspection /Total number of checked samples for haemolysis, Pre-HemV), Postotak broja zgrušanih uzoraka / ukupan broj uzoraka s antikoagulantom koji se provjeravaju na zgrušanost (engl. Percentage of: Number of samples clotted/ Total number of samples with an anticoagulant checked for clots, Pre-Clot), Postotak broja uzoraka s nedovoljnim volumenom/ ukupan broj uzoraka (engl. Percentage of: Number of samples with insufficient sample volume/ Total number of samples, Pre-InsV), Postotak broja uzoraka koji nisu dostavljeni / ukupan broj uzoraka (Percentage of: Number of samples not received/ Total number of samples, Pre-NotRec)

REZULTATI: Analiza harmoniziranih QI pokazala je stabilan trend i visoku razinu kvalitete iskazane na šest sigma skali. Prosječne sigma vrijednosti indikatora nisu se značajno promijenile u odnosu na 2016 godinu: Pre-MisS 5,38 vs. 5,14, Pre-MisR 4,75 vs.4,77, Pre-Clot 4,32 vs 4,48, Pre-NotRec 4,62 vs.4,96, i bile su na istoj ili iznad prosječnih sigma vrijednosti svih laboratorija učesnika: Pre-MisR 4,75 vs 5,04, Pre-MisS 5,38 vs.5,04, Pre-HemV 4,13 vs 4,23, Pre-Clot 4,32 vs.4,31, Pre-NotRec 4,62 vs.4,22.

ZAKLJUČAK: KZMBLM kontrinuirano radi na unapređenju komunikacije i edukacije svih djelatnika koji sudjeluju prijeanalitičkim procesima unutar i izvan laboratorija. Svim djelatnicima koji sudjeluju od zadavanja pretraga do dostave uzoraka u laboratorij osigurana je dostupnost Preglednika medicinskobiokemijskih pretraga Kliničkog zavoda za medicinsku biokemiju i laboratorijsku medicinu KB Merkur, 1937-2017, što uz ciljane edukacije odjelnog osoblja značajno doprinosi smanjenju prijeanalitičkih pogrešaka, povećanju sigurnosti bolesnika i osigurava visoku razinu kvalitete ukupnog laboratorijskog procesa. Ključne riječi: Prijeanalitičke pogreške, indikatori kvalitete

LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA GRAVESOVE BOLESTI

V. Kuić-Vadlja, M. Florijančić

KBC Osijek, Zavod za kliničku laboratorijsku dijagnostiku, Osijek, Hrvatska

Gravesova je bolest najčešći uzrok hipertireoze, stanja povećane koncentracije hormona štitnjače T4 i/ili T3, uz sniženu koncentraciju TSH. Glavnu ulogu u procesu bolesti imaju stimulirajući imunoglobulini štitnjače (TSI) koji stimuliraju štitnjaču vežući se na receptore za TSH (TSHR) na tireocitima oponašajući TSH. Na TSHR se mogu vezati i blokirajući imunoglobulini štitnjače (TBI) uslijed čega dolazi do inhibicije TSH stimulacije tireocita što rezultira hipotireoidizmom. U laboratorijskoj dijagnostici Gravesove bolesti se uz hormone štitnjače i TSH uobičajeno mjeri koncentracija autoantitijela na TSH receptor (TRAB). Međutim, ta antitijela ne razlikuju TSI od TBI što za posljedicu ima određeni postotak krivo dijagnosticiranih pacijenata. Tvrtka Simens je plasirala prvi automatizirani kvantitativni test za TSI koji bi uz kliničku sliku i nalaz hormona štitnjače trebao predstavljati temelj u postavljanju dijagnoze te bolesti.

Cilj rada bio je usporediti korisnost TSI i TRAB testova u dijagnostici Gravesove bolesti.

U istraživanje je bilo uključeno 65 pacijentica prosječne dobi 50 godina (20 do 79) koje su zaprimljene u Klinički zavod za nuklearnu medicinu i zaštitu od zračenja, te su imale kliničku sliku Gravesove bolesti. Ispitanicama je venepunkcijom uzet uzorak venske krvi u epruvetu bez antikoagulansa koji je centrifugiran 10 minuta pri 3500 rpm, pri čemu je dobiven serum koji se koristio za daljnje analize. Koncentracije ispitivanih analita su izmjerene na imnokemijskim analizatorima: TSH, FT3 i FT4 CMIA metodom na Architect i1000SR (Abbott Laboratories, Lake Forest, SAD), TRAB ECLIA metodom na Cobas e601 (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Njemačka), a TSI CLIA metodom na Immulite 2000 XPi (Siemens Healthcare Diagnostics Inc., Flanders, USA). Rezultati su obrađeni statističkim testom MedCalc, verzija 12.4.0.0. (MedCalc Software, Mariakerke, Belgium).

Temeljem koncentracija TSI pacijentice su podijeljene u dvije skupine: 47 s Gravesovom bolesti i 14 s hipertireozom drugog uzroka. ROC analizom je pri graničnoj vrijednosti od 1,9 U/L izračunata osjetljivost 87,8% i specifičnost 93,7% uz pripadajuću AUC vrijednost 0,915 (95% CI 0,818-0,969) za TRAB. Pri graničnoj vrijednosti definiranoj protokolom (>1,75 U/L) pozitivna prediktivna vrijednost je iznosila 95%, a negativna prediktivna vrijednost 70%. Iako je TRAB pokazao visoku specifičnost i osjetljivost, još uvijek ostaje jedan dio laboratorijski nepotvrđenih pacijenata, što je važno jer dokaz specifičnih antitijela predstavlja uz kliničku sliku temelj dijagnostike te bolesti. Uporaba TSI ubrzala bi i olakšala dijagnostiku Gravesove bolesti i osigurala pravovremenu terapiju.

Ključne riječi: Gravesova bolest, TSI, TRAB, štitnjača

VERIFIKACIJA EPRUVETA

I. Čižmek, Đ. Plečko, D. Polak Erceg

Specijalna bolnica za medicinsku rehabilitaciju Krapinske Toplice, Krapinske Toplice, Hrvatska

Uvod: Institut za kliničke i laboratorijske standarde (engl. Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI) 2010. godine izdao je prve smjernice za validaciju i verifikaciju epruveta za uzorkovanje venske i kapilarne krvi. Verificirane su Vacuette epruvete (Greiner Bio-One) u odnosu na postojeće epruvete (Becton Dickinson i Laboratorijska tehnika Burnik).

Cilj studije: Verificirati nove epruvete za hematološke, koagulacijske i biokemijske pretrage odnosno ispitati postoje li razlike u rezultatima između postojećih i novih epruveta kod nekoliko ključnih pretraga.

Metode: Naizmjenično su uzorkovane postojeće kontrolne i nove ispitivane epruvete (koagulacijska, biokemijska, hematološka epruveta te epruvete s Li heparinom i FX). Analizirani su rezultati 20 pacijenata s internog odjela i djelatnika MBL-a tijekom 5 dana. Od hematoloških pretraga analizirani su rezultati Lkc, Erc, Hgb i Trc, rezultati PV-INR od koagulacijskih pretraga, rezultati glukoze, ureje, kreatinina, triglicerida, kolesterola, AST, ALT, K, Na i CRP-a od biokemijskih pretraga te rezultati glukoze u fluoridnoj plazmi i HSTNI u plazmi s Li heparinom (10 pacijenata). Analize su provedene na hematološkom brojaču Abbott CellDyn 1800, koagulometru Sysmex CA 660, biokemijskom analizatoru AU400 i imunokemijskom analizatoru Architect i1000SR. Određene su razlike u srednjim vrijednostima i odstupanje rezultata u ispitivanim epruvetama u odnosu na kontrolne epruvete.

Rezultati: Srednje vrijednosti rezultata u kontrolnim i ispitivanim epruvetama, izračunata odstupanja u %, biološki kriteriji prihvatljivosti (Bias%) su: leukociti 6,33/6,33x10⁹/L, 0,0%, Bias 6,1%; eritrociti 4,537/4,540x10¹²/L, 0,1%, Bias 1,7%; hemoglobin 135,3/135,5 g/L, 0,1%, Bias 1,8%; trombociti 245,7/248,9x10⁹/L, 1,3%, Bias 5,9%; PV- INR 1,18 /1,18, 0,0%, Bias 2,0%; glukoza 5,66/5,61 mmol/L, -0,9%, Bias 2,3%; ureja 6,60/6,66 mmol/L, 0,9%, Bias 5,6%; kreatinin 90,8/90,2 umol/L, -0,7%, Bias 4,0%; TR 1,65/1,66 mmol/L, 0,6%, Bias 9,6%; KOL 4,96/4,98 mmol/L, 0,4%, Bias 4,1%; AST 29,3/29,4 U/L, 0,3%, Bias 6,5%; ALT 31,0/30,9 U/L, -0,3%, Bias 11,5%; K 4,56/4,61 mmol/L, 1,1%, Bias 1,8%; Na 138,9/138,7 mmol/L, -0,1%, Bias 0,2%; CRP 7,90/8,02 mg/L, 1,5%, Bias 21,8 %; glukoza u fluoridnoj plazmi 6,21/6,49 mmol/L, 4,5%, Bias 1,8%; HSTNI 104,60/102,41 ng/L, -2,1%, CROQALM 25,0 %.

Zaključak: Za sve pretrage dobiveno je zadovoljavajuće odstupanje rezultata u ispitivanim Vacuette epruvetama u odnosu na kontrolne epruvete prema biološkim kriterijima prihvatljivosti osim glukoze u plazmi s FX, međutim nije bilo medicinski značajne promjene između dva rezultata glukoze (Referentna vrijednost promjene iznosila je 11,9% uz CV_a=2,4%). Za HSTNI preuzeti su stroži kriteriji prihvatljivosti prema dozvoljenom odstupanju Hrvatskog centra za vrednovanje kvalitete u laboratorijskoj medicini (CROQALM) HDMBLM u programu vanjske procjene kvalitete. Zaključno Vacuette epruvete mogu se koristiti u rutinskom laboratorijskom radu.

Ključne riječi: verifikacija epruveta, Vacuette Greiner Bio-One

VERIFIKACIJA I USPOREDBA DVIJU METODA ZA ODREĐIVANJE GLIKIRANOG HEMOGLOBINA (HbA1c)

I. Karas Tocauer¹, A. Šešljaga¹, J. Starčić¹, M. Žarak¹

¹Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku, Klinička bolnica Dubrava, Avenija Gojka Šuška 6, Zagreb 10 000

UVOD. Glikirani hemoglobin (HbA1c) jedan je od transformiranih oblika hemoglobina koji nastaje neenzimskim vezanjem šećera na hemoglobinsku molekulu. Relativna koncentracija HbA1c u eritrocitima raste sa povećanjem koncentracije glukoze u krvi te se smatra mjerom prosječne glikemije u razdoblju prethodnih 2 do 3 mjeseca. S obzirom na navedeno, do sada se primarno koristio u praćenju bolesnika sa šećernom bolesti, međutim, u najnovijim smjernicama Svjetske Zdravstvene Organizacije (WHO) postaje kriterij za postavljanje dijagnoze. Stoga je točno i precizno mjerenje HbA1c jedan od izazova laboratorijske dijagnostike.

CILJ STUDIJE. Provesti verifikaciju IFCC preporučene metode, ionsko-izmjenjivačko visoko-učinkovite tekućinske kromatografije (HPLC) na analizatoru Bio-Rad D-10 (Bio-Rad Laboratories Inc., Hercules, SAD) te ju usporediti s prethodno korištenom metodom inhibicije aglutinacije lateks čestica (LAIT) na Olympus AU680 analizatoru (Beckman Coulter Inc., Tokyo, Japan).

METODE. Verifikacija metode provedena je prema CLSI protokolu EP 15-A. Komercijalno pribavljeni uzorci (Bio-Rad Lypocheck Diabetes Bilevel Control) u 2 koncentracijske razine analizirani su u triplicatu tijekom 5 dana. Iz dobivenih podataka izračunati su preciznost (KV) i točnost (BIAS). Rezultati su interpretirani u odnosu na kriterije proizvođača ($\pm 12\%$). Usporedba dviju metoda provedena je istovremenim određivanjem HbA1c u hepariniziranoj (LAIT metoda) i K3-EDTA punoj krvi (HPLC metoda) na 48 ostalih uzoraka cijelog koncentracijskog područja. Dobiveni podaci analizirani su Passing-Bablok regresijom te prikazani Bland-Altman grafom.

REZULTATI. Dobivene vrijednosti za preciznost su 3,32% (L1 s ciljnom vrijednosti HbA1c 5,2%) i 4,99% (L2 s ciljnom vrijednosti 9,9%). Vrijednosti za istinitost su 2,10% (L1) i 3,13% (L2). Passing-Bablok analizom dobiven je regresijski pravac $Y = 0,1783 + 1,0290X$ (95% interval pouzdanosti (CI) za odsječak iznosi -0,2027 do 0,5159, a za nagib 0,9848 do 1,0811), što pokazuje da ne postoji niti konstantna niti proporcionalna pogreška u usporedbi rezultata dobivenih metodama LAIT i HPLC. Prikazom Bland-Altman uočen je prosječan BIAS od 6,1%, što zadovoljava postavljeni kriterij.

ZAKLJUČAK. Metoda za određivanje HbA1c na analizatoru BioRad D-10 u potpunosti zadovoljava postavljene kriterije za preciznost i točnost te se kao takva može smatrati apsolutno prihvatljivom za rutinsku laboratorijsku primjenu. Usporedba s prethodno korištenom metodom nije pokazala statistički značajnu razliku u mjerenjima. Nova metoda za određivanje HbA1c svoje prednosti, u odnosu na prethodno korištenu metodu, pronalazi u sve

tri faze laboratorijskog procesa; 1) etički gledano potreban je manji volumen oduzete krvi za analizu, 2) preskače se manualni predanalitički korak pripreme hemolizata te 3) poslijeanalitički gledano točnost i preciznost dobivenih rezultata značajno je poboljšana. Sve navedeno predstavlja važan napredak u dijagnostici i praćenju bolesnika sa šećernom bolesti.

KLJUČNE RIJEČI: verifikacija, usporedba metoda, glikirani hemoglobin (HbA1c), šećerna bolest

VAŽNOST LABORATORIJSKE DIJAGNOSTIKE KOD BOLESTI ŠTITNJAČE

J. Plazibat¹, M. Burić², T. Bogović-Crnčić³, M. Malnar³

¹KBC Rijeka, Zavod za kliničku citologiju, Rijeka, Hrvatska, ²KBC Rijeka, Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku, Rijeka, Hrvatska, ³KBC Rijeka, Klinički zavod za nuklearnu medicinu, Rijeka, Hrvatska

UVOD

Štitnjaču nazivaju “čuvaricom zdravlja”. Bolesti štitnjače su najčešći endokrinološki poremećaji. Razlikujemo funkcionalni, morfološki ili imunološki poremećaj štitnjače. To su hipo ili hipertireoza (usporeni ili ubrzani rad), tireoiditisi (upale), guša (difuzna ili čvorasta) te tumori štitnjače (adenomi i karcinomi). Određivanje hormona štitnjače i protutijela su među najizvođenijim laboratorijskim pretragama a primjena novih osjetljivijih i specifičnijih metoda dovela je do poboljšanja dijagnostike i praćenja bolesti štitne žlijezde.

Cilj ovoga istraživanja bio je ispitati učestalost korištenja pojedinih laboratorijskih pretraga funkcije štitnjače na Kliničkome zavodu za nuklearnu medicinu (KZZNM) u Kliničkom bolničkom centru (KBC) Rijeka u razdoblju između 2013. i 2017. godine. Test tireotropina (TSH) u serumu služi kao primarni pokazatelj procjene funkcije štitnjače. Od ostalih analiza često se određuju koncentracije hormona štitnjače T4 i T3 (ukupni i slobodni), tireoglobulina (TG), protutijela na tireoidnu peroksidazu (TPO) ili na tireoglobulin (TGA). Donedavna se mjerila koncentracija protutijela na receptor tireotropina (TRAK test) a zadnjih godinu dana se određuje razina TSH stimulirajućeg imunoglobulina (TSI) koja ima glavnu ulogu u razlikovanju Graves-Basedow bolesti od ostalih poremećaja štitnjače. Hormoni štitnjače i protutijela određivana su imunokemijskim metodama na automatiziranome kemiluminescentnome analizatoru Immulite 1000 i Immulite 2000 XPi tvrtke Siemens te RIA i IRMA metodama na Stratecu 300 tvrtke Brahms.

MATERIJALI I METODE

Retrospektivno istraživanje učinjeno je za razdoblje od 2. siječnja 2013. do 8. studenog 2017. Podatci o obavljenim biokemijskim pretragama funkcije štitnjače dobiveni su iz aplikacije koja se koristi za mjesečne izvještaje, tj. iz računalne baze KBC-a Rijeka. Podatci su pohranjeni i analizirani u računalnom programu Microsoft Office Excel® 2010 (Microsoft Corporation, Redmond, WA, SAD).

REZULTATI

U razdoblju 2013-2017. godine u laboratoriju Kliničkog zavoda za nuklearnu medicinu, KBC-a Rijeka, utvrdili smo smanjenje broja pacijenata ali porast ukupnog broja pretraga tj. broja pretraga po pacijentu. 2014 godine određivanje TSH-a je uvedeno u laboratorij primarne zdravstvene zaštite što je dovelo do češćeg indiciranja TSH te je probir proširen na veći broj pacijenta iz ordinacija obiteljske medicine. Povećao se broj upućenih pacijenata u opširniju specijalističku obradu i dolazi do porasta ukupnog broja pretraga u području laboratorijske dijagnostike u tireologiji. TSH, naosjetljiviji parametar u procjeni funkcije štitnjače i nadalje je najčešće indicirana pretraga sa udjelom od 147.795 (51.09%), FT4 98.769 (34.14%), FT3 13.464 (4.65%), TG 12.492 (4.31%), autoprotutijela anti-TPO, anti-TgAt, TRAK 2

(TSI) u udjelu 16.778 (5.69%) od 289.298 ukupnog broja pretraga u promatranom razdoblju.

ZAKLJUČAK

Biokemijski laboratorijski testovi jesu brzi, jednostavni i neagresivni za bolesnike, te predstavljaju nezamjenjiv oslonac u dijagnostici i praćenju bolesti štitnjače.

Ključne riječi: štitnjača, biokemijski testovi, laboratorijska dijagnostika

KRATKA VERIFIKACIJA IMUNOTURBIDIMETRIJSKE METODE ROCHE TINA-QUANT HbA_{1c} GEN. 3 NA ANALITIČKOM SUSTAVU ROCHE COBAS INTEGRA 400 PLUS

LJ. Letina, H. Balenović, J. Vojvodić, M. Sekol, M. Krhač, S. Božičević

Klinički zavod za medicinsku biokemiju i laboratorijsku medicinu, Klinička bolnica Merkur, Zagreb, Hrvatska

Uvod: Hemoglobin A_{1c} (HbA_{1c}) je ključna laboratorijska pretraga za dijagnostiku i praćenje te procjenu rizika za razvoj kasnih komplikacija šećerne bolesti. Od 2011. godine uvršten je u kriterije za postavljanje dijagnoze šećerne bolesti, za što je preduvjet zadovoljavanje vrlo strogih kriterija kvalitete. Klinički značajnom smatra se promjena od 0,5% (DCCT jedinice) odnosno 5mmol/mol (IFCC jedinice), zbog čega je nužno osigurati pouzdane i kvalitetne rezultate laboratorijskih određivanja.

Cilj studije: Ocijeniti kvalitetu analitičke izvedbe treće generacije reagensa Roche Cobas Tina-quant za određivanje HbA_{1c} na analitičkom sustavu Roche Cobas Integra 400 Plus (Roche Diagnostics International) i njezinu prihvatljivost za rutinsku primjenu u Kliničkom zavodu za medicinsku biokemiju i laboratorijsku medicinu.

Metode: Za određivanje HbA_{1c} na analitičkom sustavu Cobas Integra 400 Plus korištena je treća generacija Tina-quant HbA_{1c} reagensa. Načelo postupka mjerenja HbA_{1c} temelji se na određivanju koncentracije HbA_{1c} turbidimetrijskom metodom imuno-inhibicije i ukupnog hemoglobina iz uzorka pune krvi kolorimetrijskom metodom. Krajnji rezultat iskazuje se računski kao postotak (%), prema DCCT sustavu) te u SI jedinicama (mmol/mol, prema IFCC sustavu).

Kratka analitička verifikacija provedena je prema CLSI protokolu E15-A3. Za ispitivanje preciznosti korištene su dvije koncentracijske razine komercijalnih kontrolnih materijala sa srednjim vrijednostima HbA_{1c} od 6,6 % (48 mmol/mol) i 9,6 % (81 mmol/mol). Mjerna nesigurnost određivanja procijenjena je iz sastavnica mjerne nesigurnosti: podataka ukupne laboratorijske preciznosti, mjerne nesigurnosti kalibratora i sustavne pogreške.

Kriteriji prihvatljivosti iskazani kao koeficijenti varijacije (KV) bili su prema: veličini biološke varijacije: intraindividualni: 1,9%, sustavna pogreška: 1,5%, ukupna analitička pogreška: 3,0%; proizvođaču: za fiziološko područje 2,1%, a za patološko područje 1,7%; međunarodnim stručnim preporukama: < 2% (DCCT); < 3% (IFCC)

Rezultati: Ukupna laboratorijska preciznost iznosila je 0,7% (DCCT) i 1,0% (IFCC) za područje normalne koncentracijske razine, a sustavna pogreška 1,0% (DCCT) i 1,7% (IFCC) te ukupna analitička pogreška 1,4% (DCCT) i 2,5% (IFCC) s proširenom mjernom nesigurnosti 3,5% (DCCT) i 4,5% (IFCC). Za patološku koncentracijsku razinu ukupna laboratorijska preciznost bila je 0,9% (DCCT) i 1,2% (IFCC), a sustavna pogreška 1,1% (DCCT) i 1,5% (IFCC) s ukupnom analitičkom pogreškom od 1,8% (DCCT) i 2,9% (IFCC) te proširenom mjernom nesigurnosti od 3,5% (DCCT) i 4,4% (IFCC).

Zaključak: Prema dobivenim rezultatima, ispitivana metoda Roche Cobas Tina-quant Gen. 3 za određivanje HbA_{1c} na analitičkom sustavu Roche Cobas Integra 400 PLUS zadovoljila je sve postavljene kriterije kvalitete, stoga je prikladna za rutinsku upotrebu.

Ključne riječi: HbA_{1c}, šećerna bolest, analitička verifikacija

KRATKA VERIFIKACIJA METODE ZA ODREĐIVANJE PARATIREOIDNOG HORMONA NA ANALITIČKOM SUSTAVU ADVIA CENTAUR-XP

J. Tudor, I. Vlajić, N. Čulina, A. Dekanić, M. Krhač, M. Vučić Lovrenčić

Odjel za laboratorijsku medicinu, Klinički zavod za medicinsku biokemiju i laboratorijsku medicinu, Klinička bolnica Merkur, Zagreb, Hrvatska

Uvod: Paratireoidni hormon (PTH) je polipeptidni hormon paratireoidnih žlijezda čija je ključna uloga u održavanju ravnoteže kalcija i fosfora u cirkulaciji te integriteta koštanog tkiva. Koristi se kao pomoć kod diferencijalne dijagnoze hiper- i hipoparatireoidizma. Određivanje koncentracije PTH ključan je podatak u evaluaciji osteoporoze, renalne osteodistrofije i statusa paratireoidnih žlijezda kod bubrežnih bolesnika pri čemu je osobito koristan kod bolesnika s dijabetičkom nefropatijom.

Cilj studije: Procijeniti analitičke značajke novog reagensa za određivanje intaktnog PTH na analitičkom sustavu ADVIA Centaur-XP te ocijeniti prikladnost za primjenu u rutinskom dijagnostičkom postupku.

Metode: Metoda za određivanje intaktnog PTH na analitičkom sustavu ADVIA Centaur-XP (Siemens, SAD) temelji se na principu dvostruke „sendvič“ imuno-analize s monoklonskim antitijelima, uz direktnu kemiluminiscentnu tehnologiju. Kratka verifikacija učinjena prema CLSI protokolu E15-A3 uključila je provjeru preciznosti u seriji (ponovljivost), preciznost iz dana u dan (međupreciznost) te ukupnu laboratorijsku preciznost pomoću komercijalnih kontrolnih materijala u dvije koncentracijske razine koje su pokrile fiziološko i patološko područje. Dobiveni rezultati su tumačeni u okviru kriterija prihvatljivosti prema biološkoj varijabilnosti (intraindividualni koeficijent varijacije: $KV_I = 25,9\%$; optimalan $KV_I = 13,0\%$). Rezultati: Vrijednosti KV dobivene za ponovljivost, preciznost i ukupnu laboratorijsku preciznost u normalnom koncentracijskom području iznosile su: 5,3%, 7,1% i 8,3%, dok su za patološko područje bile 6,2%, 6,5% i 8,3%.

Zaključak: Rezultati analitičke verifikacije pokazali su da je metoda za određivanje intaktnog PTH na ADVIA Centaur-XP analitičkom sustavu zadovoljila optimalne kriterije biološke varijabilnosti te je prikladna za rutinsko određivanje u Kliničkom zavodu za medicinsku biokemiju i laboratorijsku medicinu.

Ključne riječi: PTH, analitička verifikacija

UPALNI BILJEG C REAKTIVNI PROTEIN (CRP) U PRETILE DJECE

Milena Nadrčić¹, Marija Banić¹, Daniela Šupe-Domić^{1,2}

¹KBC Split, Zavod za medicinsko laboratorijsku dijagnostiku, Split, Hrvatska; ²Sveučilište u Splitu, Sveučilišni odjel zdravstvenih studija, Split, Hrvatska.

Uvod: Masno tkivo ima funkciju skladištenja energije ali ima i ulogu lučenja različitih hormona. Zbog prekomjernog nakupljanja masnog tkiva može doći do poremećaja njegove funkcije, a time i povećanog lučenja različitih adipokina koji će pokrenuti niz događanja u organizmu.

Cilj: Ispitati uzročno-posljedičnu vezu količine masnog tkiva i koncentracije adipokina u organizmu. Analizirati povezanost antropometrijskih (opseg struka i bokova, tjelesna visina i masa, ITM, sistolički i dijastolički arterijski tlak) i metaboličkih parametara pretile djece (glukoza, inzulin, kolesterol, trigliceridi, HDL i LDL) te koncentracije upalnog biljega CRP-a u odnosu na djecu primjereno uhranjenom za svoju dob i spol.

Metode: Studija predstavlja presječno istraživanje slučajeva i kontrola usporedbom ispitivane grupe od 30 pretile djece i adolescenata (13.04 ± 2.14) s kontrolnom skupinom od 30 djece normalne težine usklađene dobi (13.09 ± 2.21). Odnos muških i ženskih ispitanika i u kontrolnoj i u ispitivanoj skupini je 50:50. U obje skupine izmjeren je indeks tjelesne mase (ITM) i opseg struka i bokova te sistolički i dijastolički krvni tlak. Izmjereni su i standardni metabolički parametri (glukoza natašte, ukupni kolesterol, HDL, LDL i trigliceridi) standardiziranim metodama. Koncentracija inzulina natašte mjerena je elektrokemiluminiscentnom metodom "ECLIA", a koncentracija CRP-a imunoturbidimetrijskom metodom.

Rezultati: Antropometrijske mjere (ITM u kg/m^2 , percentilima, z-vrijednost, opseg struka i bokova u centimetrima i sistolički arterijski tlak u mmHg) ispitivane grupe i adolescenata pokazuju statistički značajnu razliku u usporedbi s djecom i adolescentima kontrolne grupe ($P < 0.001$). Koncentracija inzulina natašte u mU/L, HOMA indeksa, HDL i triglicerida u mmol/L, pokazuju statistički značajnu razliku među skupinama ($P < 0.001$), dok glukoza natašte, ukupni kolesterol i LDL u mmol/L, nisu pokazali statistički značajne razlike ($P=0.756$, $P=0.559$, $P=0.657$). Serumaska koncentracija CRP-a ispitivane skupine (2.96 ± 2.71 mg/L) i kontrolne skupine (0.69 ± 0.82 mg/L) pokazuje statistički značajnu razliku među skupinama ($P < 0.001$).

Zaključak: Potvrđena je hipoteza da je u pretile djece koncentracija CRP-a povećana. Imunoturbidimetrijska metoda za analizu uzorka seruma u pretile djece dovoljno je osjetljiva i specifična. Dobiveni rezultati upućuju na veću moguću zaštitnu ulogu HDL kolesterola. Iako smo dobili potvrdne rezultate naše hipoteze, znamo da je patogeneza pretilosti kompleksna, te je zbog toga potrebno provoditi dodatne studije s većim brojem ispitanika uključenih u ispitivanu i kontrolnu skupinu.

Ključne riječi: upalni biljeg, CRP, pretilost, djeca

PROTOČNOCITOMETRIJSKA DIJAGNOSTIKA KRONIČNE GRANULOMATOZNE BOLESTI

M. Hrkać, L. Kurić, A. Babić, H. Lalić, D. Batinić

KBC Zagreb Medicinskog fakulteta sveučilišta u Zagrebu, Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku, Odjel za laboratorijsku imunologiju

Uvod: Kronična granulomatozna bolest (KGB) je skupina nasljednih bolesti fagocita (primarnih imunodeficijencija) koja nastaje zbog izostanka respiracijskog praska u granulocitima, unatoč očuvanoj fagocitnoj sposobnosti. Biokemijski radi se o nemogućnosti stvaranja reaktivnih intermedijara kisika, primarno superoksida O_2^- zbog mutacije jedne od pet podjedinica enzimskog kompleksa nikotinamid adenin dinukleotid fosfat oksidaze (NADPH), odnosno enzimskog kompleksa PHOX. Danas je poznato više od 400 mogućih mutacija NADPH-a koja uzrokuju različit stupanj i intenzitet bolesti. U većine slučajeva radi se o X-vezanoj bolesti koja pogađa dječake, dok je u ostalim slučajevima nasljeđivanje autosomno recesivno. Bolest se klinički očituje ponavljajućim infekcijama, posebice granulomatoznim lezijama pluća, jetre, probavnog i mokraćno-spolnog sustava te limfnih čvorova.

Cilj: U ovom radu će se opisati ključni koraci u pripremi uzorka za analizu respiracijskog praska u granulocitima, kao i tipični nalazi protočnocitometrijske analize u zdravih ispitanika i oboljelih od kronične granulomatozne bolesti.

Metode: Dijagnoza bolesti se u prošlosti postavljala na temelju NBT-testa na razmazima periferne krvi, no danas se pretežito temelji na protočnoj citometriji kojom se mogu otkriti i ženski nosioci, odnosno prenositelji X-vezanog oblika bolesti. U načelu, protočnom citometrijom se dokazuje oksidacija nefluorescentne boje 2',7'-diklorofluorescein-diacetat (DCFDA) i njezina konverzija u fluorescentni spoj 2',7'-diklorofluorescein nakon aktivacije leukocita *in vitro* s pomoću forbol-estera. Danas se sve više preporučuje uporaba drugog indikatorskog spoja - dihidrorodamina 123 (DHR) - koji se u aktiviranim granulocitima oksidira i pretvara u fluorescentni kationski rodamin 12. Izostanak ili smanjena fluorescencija u ispitivanim granulocitima znak je bolesti. Na temelju stupnja oksidacije indikatorskog spoja tj. fluorescencije u granulocitima, protočnom se citometrijom može razlikovati X-vezani oblik od autosomno recesivnih oblika KGB.

Rezultati: U periodu od 2012.-2018.g. analizirano je ukupno 130 uzoraka ispitanika sa sumnjom na KGB, od čega su 2 ispitanika imala klasičan X-vezani oblik KGB-a, a u 1 djevojčice je postavljena sumnja na autosomno recesivni oblik bolesti.

Zaključak: Protočnocitometrijska analiza respiracijskog praska je ključni test u postavljanju dijagnoze KGB-a, kako bi se što ranije započela odgovarajuća terapija.

Ključne riječi: kronična granulomatozna bolest, respiracijski prasak

AUTOMATIZIRANA DKS KAO SIGNAL ZA PROMJENJENU MORFOLOGIJU LEUKOCITA

Marko Mak, Danijela Šarić, Biserka Orehovec, Marcela Živković

Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku, Klinička bolnica Dubrava, Avenija Gojka
Šuška 6, Zagreb 10 000

UVOD.

Diferencijalna krvna slika (DKS) je hematološka pretraga kojom se određuju subpopulacije leukocita i s ukupnim brojem leukocita dobiva se uvid u opće zdravstveno stanje pacijenta. Razvojem laboratorijske tehnologije sredinom prošlog stoljeća pojavili su se prvi hematološki brojači s automatiziranom DKS. Posterski rad prikazuje neke osobitosti automatizirane DKS na ADVIA 2120i (Siemens).

METODE.

ADVIA 2120i ukupan broj leukocita određuje metodom rasapa svjetlosti i protočnom citometrijom. Automatizirana DKS određuje se metodom mjerenja aktivnosti mijeloperoksidaze u leukocitima i njihove veličine. Komparativno, ADVIA 2120i također razdvaja leukocite prema veličini stanice i segmentiranosti jezgre na mono i polinukleare te blaste (%). Automatizirana DKS na ADVIA 2120i je 6-djelna i sastoji se od neutrofilnih granulocita, monocita, limfocita, eozinofilnih i bazofilnih granulocita te LUC stanica izraženih u relativnom i apsolutnom broju. Stanice LUC su velike stanice bez aktivnosti mijeloperoksidaze (blasti, atipični limfociti ili reaktivni monociti).

CILJ STUDIJE.

Za pravilnu interpretaciju rezultata automatizirane DKS na ADVIA 2120i važno je provjeriti sve morfološke opaske koje nastaju usporedbom rezultata DKS opisanim metodama. Cilj rada je ukazati na primjere kojima ADVIA 2120i signalizira nenormalnosti u raspodjeli subpopulacija leukocita i upozorava na nužnost provjere krvnog razmaza svjetlosnom mikroskopijom.

PRIKAZ SLUČAJEVA:

Akutna promijelocitna leukemija:

Opaska: sumnja na nezrele granulocite rezultat je razlike između neutrofilnih granulocita (%) dobivenih citokemijskom metodom i polinukleara (%) dobivenih komparativnom metodom. Razlika od 50% nastala je zbog snažne aktivnosti mijeloperoksidaze u azurofilnim granulama promijelocita i malog broja prepoznatih polinukleara.

Zaključak: nije prisutno 87% neutrofila nego 75% promijelocita. Karakterističan graf: spojeni neutro i eozinofilni granulociti.

Atipične stanice u vrijeme kemoterapije

50% Luc (+40% limfocita), sukladno je s 98 % mononukleara jer nema zrelih stanica pa tako ni polinukleara. U razmazu nisu pronađeni blasti nego atipični mononukleari.

MPO defekt

Karakteristična je opaska kod pacijenata kojima su lijekovi suprimirali aktivnost mijeloperoksidaze. LUC stanice su značajno uvećane (85%), nema neutrofilnih granulocita

(1%), ali na komparativnoj metodi pronalazi se ureadan broj polinukleara (84%).

Mikroskopiranjem nalaz je uredan.

Skretanje u lijevo i nezrele stanice

Razlika između postotaka neutrofila i polinukleara je 26%. U razmazu je pronađeno 37% nesegmentiranih granulocita, 25% mijelocita i 15% metamijelocita te segmentiranih 17%, limfocita 4% i monocita 2%.

ZAKLJUČAK.

Automatizirana DKS na hematološkim analizatorima uvelike je olakšala rad u hematološkim laboratorijima i povećala brzinu obrade uzoraka. Međutim, automatizirana DKS ima svoja ograničenja koja je bitno prepoznati i mikroskopiranjem provjeriti razmaz što je zadatak educiranog laboratorijskog djelatnika koji interpretira i kontrolira rezultate automatizirane DKS.

Ključne riječi: diferencijalna krvna slika, automatizacija

ODREĐIVANJE 17-OHP U SERUMU NOVOROĐENČADI I DJECE DO 6 MJESECI STAROSTI – POSTUPAK UKLANJANJA METABOLITA U KRIŽNOJ REAKCIJI METODE S LIGANDIMA

N. Mićanović, V. Kušec

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

Uvod: Dijagnostika kongenitalne adrenalne hiperplazije (KAH) uključuje nalaz povišene koncentracije 17-hidroksiprogesterona (17OHP) u serumu. U KAH-u uslijed manjkave funkcije enzima 21-hidroksilaze (u slijedu sinteze kortizola) je 17OH P povišen. U novorođenčadi, u stresnim stanjima te drugim bolestima i u male djece (do 6 mj.) je 17OHP povišen. Jedan od razloga povišenih koncentracija 17OH P su drugi metaboliti hormona nadbubrežne žlijezde koji se vežu u reakciji. Težina bolesti ovisi o stupnju manjkave funkcije 21-hidroksilaze, a kliničku sliku obilježava virilizacija uslijed metaboliziranja nakupljenih preteča kortizola u androgene hormone. Kod potpunog nedostatka funkcije ovog enzima postoji i manjak aldosterona s hiponatrijemijom, hiperkalijemijom i dehidracijom, a što može biti po život opasno stanje.

Cilj: Prikazati metodu uklanjanja metabolita kore nadbubrežne žlijezde koji se vežu u reakciji mjerenja 17OHP (metode s ligandima, ELISA) s lažno visokim rezultatima. Metaboliti u serumu novorođenčeta ili malog djeteta do 6 mjeseci se uklone ekstrakcijom seruma pomoću etera. Usporedba rezultata prije i nakon uklanjanja ovih metabolita pomaže u dijagnostici bolesnika s KAH-om.

Materijal i metode: Postupak uključuje miješanje 100 uL seruma i 4 mL etera na tresilici tijekom 15 min u začepljenoj epruveti. Smjesa se stavi na led ili u zamrzivač oko 30 min te nadtalog odlije u čistu epruvetu. Nadtalog se pusti ishlapiti u digestoru preko noći. Talog se otopi prije postupka mjerenja sa 100 uL nultog standarda i u nastavku postupi prema uputi proizvođača (17OH-PROGESTERONE ELISA, DiaSource; Belgija).

Rezultati: U Tablici 1 su prikazni rezultati mjerenja 17OHP u serumu sa i bez ekstrakcije za 38 bolesnika. Označen je spol, dob, potvrda dijagnoze KAH, te referentni rasponi za 17OH P za prema dobi bolesnika.

Zaključak: Ovi rezultati prikazuju važnost ekstrakcije seruma prije mjerenja 17OHP metodom s ligandima (ELISA) kod djece do 6 mjeseci u postupku dijagnostike KAH-a. Postupak ekstrakcije seruma s eterom pomažu u kliničkoj dijagnozi ili isključivanju KAH-a. U krvotoku starije djece (6 mjeseci i nadalje) i odraslih nema metabolita koji križno reagiraju u reakciji metode s ligandima i ekstrakcije nije potrebna.

Ključne riječi: 17-OHP, ekstrakcija, KAH

ODREĐIVANJE KONCENTRACIJE FEKALNOG KALPROTEKTINA U BOLESNIKA S UPALNIM I NEUPALNIM BOLESTIMA CRIJEVA

Nataša Kuntić, Kristina Gustin, Elizabeta Fišić

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

UVOD: Fekalni kalprotektin je biomarker upalnih bolesti crijeva (eng. Inflammatory bowel disease, IBD). Nalazi se u citoplazmi upalnih stanica, pa se povišene koncentracije nalaze u stolici oboljelih od upalnih bolesti crijeva. Kod neupalnih bolesti crijeva, sindroma iritabilnog crijeva (eng. Irritable bowel syndrom, IBS), nema upalnog procesa u probavnom traktu pa su vrijednosti fekalnog kalprotektina u pravilu u rasponu referentnih vrijednosti ili blago povišene. Simptomi kod IBD i IBS su slični, pa fekalni kalprotektin pomaže pri diferencijalnoj dijagnozi upalnih stanja, u praćenju terapije i procjeni težine same bolesti. Cilj rada je bio odrediti koncentraciju fekalnog kalprotektina u bolesnika s IBD i IBS, usporediti dobivene vrijednosti i ukazati na značaj fekalnog kalprotektina u procjeni upale kod IBD te utvrđivanja daljnjih dijagnostičkih postupaka.

MATERIJALI I METODE: Korišteni su, retrogradno prikupljeni podaci o koncentraciji fekalnog kalprotektina u bolesnika s upalnim i neupalnim bolestima crijeva, u vremenskom razdoblju od 20.03.2015-20.03.2016. godine. U ispitivanje je bilo uključeno 337 ispitanika koji su podijeljeni u skupine ovisno o postavljenim dijagnozama; Crohnova bolest, ulcerozni kolitis, sindrom iritabilnog crijeva i ostale gastrointestinalne bolesti. Fekalni kalprotektin je određivan kvantitativnom imunokromatografskom metodom testovima Quantum Blue[®] Calprotectin i Quantum Blue Calprotectin High Range (Buhlmann, Švicarska) u Kliničkom zavodu za laboratorijsku dijagnostiku, Odjelu za opću biokemiju i hematologiju.

REZULTATI: Vrijednosti fekalnog kalprotektina po skupinama bolesti; Crohnova bolest, ulcerozni kolitis, sindrom iritabilnog crijeva; kretale su se kako slijedi: 292, 152 i 32,5 µg/g. U radu su ispitivane i vrijednosti fekalnog kalprotektina po dobnim skupinama. Odraslih ispitanika je bilo 244, u dobi od 18-83 godine, a djece 93 u dobi od 1-18 godina. Dokazali smo da postoji statistički značajna razlika u vrijednostima fekalnog kalprotektina po dobi i dijagnozama. Vrijednosti fekalnog kalprotektina u djece i odraslih koji su imali dijagnozu Crohnove bolesti bile su 242 µg/g. prema 915 µg/g., ulceroznog kolitisa 149 µg/g. prema 794,5 µg/g i IBS-a 32,5 µg/g prema 43,5 µg/g stolice.

ZAKLJUČAK: U skupini bolesnika s IBD, nađene su znatno više koncentracija fekalnog kalprotektina u odnosu na skupinu bolesnika s IBS. U usporedbi s odraslim bolesnicima i djecom, s istim dijagnozama, nađene su značajno više vrijednosti fekalnog kalprotektina u djece. Određivanje fekalnog kalprotektina je jednostavna i brza laboratorijska pretraga važna u diferencijalnoj dijagnostici upalnih bolesti.

KLJUČNE RIJEČI: fekalni kalprotektin, IBD, IBS

PRIKAZ SLUČAJA: PRAĆENJE VRIJEDNOSTI PROKALCITONINA U SLUČAJU DOJENAČKE SEPSE

Nikolina Cvek, Dubravka Šestak, Tea Hadžić, Nada Bubalo

Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, Klinički bolnički centar Zagreb, Zagreb, Hrvatska

Uvod: Prokalcitonin (PCT) je upalni biljeg čija koncentracija u plazmi raste u stanjima sepse. Njegova specifičnost je ograničena jer može biti povišen u bakterijskim infekcijama sa sistemskom upalnom reakcijom organizma, u stanjima sepse, sistemske gljivične infekcije, parazitske infekcije kao i kod velikih kirurških trauma. Značajan je i kao kontrolni biljeg sa širokim spektrom indikacija za praćenje i nadzor bolesnika u jedinicama intenzivnog liječenja. Kinetika promjene vrijednosti prokalcitonina može se koristiti u procjeni uspješnosti terapije.

Cilj rada: Prikazati kinetiku promjene vrijednosti prokalcitonina u slučaju dojenačke sepse. Prikazati osobine dobrog biljega upale kroz slučaj šestomjesečnog dojenčeta.

Metode: Krv za biokemijske pretrage uzorkovana je u 4 mL epruvete Vacuette sa Li-heparinom (Greiner Bio-One, Austrija). Analiza prokalcitonina napravljena je metodom elektrokemiluminiscencije na analizatoru Roche Cobas e601 (Roche, USA). Vrijednost prokalcitonina manja od 0,5 µg/L ukazuje na moguću lokaliziranu bakterijsku infekciju, vrijednost 0,5–2 µg/L na moguću sistemsku infekciju, a 2–10 µg/L na sigurnu sistemsku infekciju. Vrijednosti iznad 10 µg/L ukazuju na tešku bakterijsku sepsu ili septički šok. U prikazu slučaja opisana je djevojčica u dobi od 6 mjeseci sa složenom srčanom greškom zaprimljena na jedinicu intenzivnog liječenja djece KBC Zagreb zbog planiranog kardiokirurškog zahvata.

Rezultati: U sklopu rutinske obrade pacijentici je utvrđena povećana vrijednost prokalcitonina – 25.06 µg/L dok je prethodnog dana u kasnim poslijepodnevnim satima ona iznosila 4.27 µg/L. Iz hemokulture izoliran je *Corynebacterium jeikeium* te je uvedena terapija levofloksacinom i cefepimom. Narednih dana vrijednosti analiziranog prokalcitonina kao pokazatelji kontrole bolesti i uspjeha antibiotske terapije bile su u padu. Vrijeme do izdavanja rezultata prokalcitonina bilo je 60 min.

Zaključak: Prokalcitonin se pokazao kao vrijedna i korisna pretraga jer je korelirao sa septičnim stanjem, a rezultat je dobiven u kratkom vremenskom periodu. Značajan je ne samo kao pokazatelj prisutstva infekcije, već i njene težine, što u korelaciji s kliničkom slikom može doprinijeti brzom orijentaciji liječnika i pravovremenom započinjanju antibiotske terapije. Mjerenjem prokalcitonina može se doći do informacije o mogućoj sepsi puno prije mikrobiološkog nalaza koja je i dalje zlatni standard.

Ključne riječi: prokalcitonin, sepsa

USPOREDBA METODA BEZ I S DODATKOM PIRIDOKSAL-FOSFATA ZA MJERENJE AKTIVNOSTI AMINOTRANSFERAZA NA UREĐAJU ROCHE COBAS 6000

R. Paliska Banišić, Lj. Bolić, J. Vlašić Tanasković, L. Honović

Odjel za laboratorijsku dijagnostiku, OB Pula, Pula, Hrvatska

UVOD: Standardizacija mjernih postupaka i mjeriteljska sljedivost rezultata laboratorijskih pretraga predstavljaju osnovu brojnih međunarodnih inicijativa za harmonizaciju u području laboratorijske dijagnostike. Krajnji cilj takvih nastojanja su točni, pouzdani i usporedivi rezultati koji omogućavaju primjenu istovrsnih referentnih intervala i kliničkih smjernica u liječenju. Preporučena standardizirana metoda IFCC za mjerenje katalitičke aktivnosti aminotransferaza (AST i ALT) je fotometrijska metoda s dodatkom koenzima piridoksal-fosfata. Uvođenje preporučene metode IFCC u rutinsku laboratorijsku praksu zahtijeva usporedbu rutinski korištene i nove metode, te pravovremeno obavješćivanje korisnika laboratorijskih usluga o dobivenim rezultatima.

CILJ STUDIJE: Cilj ovog rada je utvrditi usporedivost i prosječno odstupanje rutinski korištene metode bez dodatka piridoksal-fosfata s preporučenom metodom IFCC za određivanje aktivnosti aminotransferaza u serumu na uređaju Roche Cobas 6000.

MATERIJALI I METODE: Metodom linearne regresijske analize prema Passingu i Babloku ispitano je postojanje konstantne i proporcionalne pogreške u usporedbi rezultata mjerenja dobivenih dvjema metodama. Prosječna odstupanja preporučene metode IFCC od fotometrijske metode bez piridoksal-fosfata utvrđena su statističkom analizom prema Bland-Altmanu. Razlika između metoda ispitana je usporedbom mjerenja u 29 uzoraka seruma.

REZULTATI: Jednadžbe pravaca regresije za AST i ALT upućuju na postojanje proporcionalnog odstupanja između dvije metode za AST: $y (AST_{PP}) = 0,84 + 1,12x (AST)$, te konstantnog i proporcionalnog odstupanja između dvije metode za ALT: $y (ALT_{PP}) = 2,20 + 1,07x (ALT)$. Aktivnosti AST-a prosječno su više za 16,0 % (-3,4 – 35,5), a aktivnosti ALT-a za 12,6 % (-3,7 do 29,0) od onih izmjerenih rutinski korištenim metodama.

ZAKLJUČAK: Utvrđene su značajne razlike u rezultatima mjerenja aminotransferaza dvjema analitičkim metodama. Sukladno pravilima dobre laboratorijske prakse, o uvođenju nove metode, te očekivanim razlikama u rezultatima mjerenja obaviješteni su svi korisnici laboratorijskih usluga.

KLJUČNE RIJEČI: aminotransferaze, AST, ALT, piridoksal-fosfat

PROCJENA AUTOMATSKOG ANALIZATORA ROLLER20PN

Santini T¹, Peričić¹ I., Zdrilić¹ V., Ježina¹ A., Perović¹ E., Baković¹ L.

¹Odjel za laboratorijsku dijagnostiku, Opća bolnica Zadar, Hrvatska

Uvod. Brzina sedimentacije eritrocita (SE) je odvajanje eritrocita od plazme u određenom vremenu. Vrijednosti SE ovise o proteinskom sastavu plazme, veličini i obliku eritrocita te njihovoj koncentraciji. Povećane vrijednosti plazmatskih proteina (fibrinogena, α - i γ -globulina) dovode do smanjenja negativnog naboja površine eritrocita, što dovodi do stvaranja rouleaux formacija i povećanja brzine sedimentacije.

SE je nespecifičan test i povišene vrijednosti nalaze se kod različitih stanja kao što su: menstruacija, trudnoća, akutne i kronične upale, anemije i maligne bolesti. Westergrenova metoda je zlatni standard i ICSH preporučena metoda za mjerenje SE. Ostale metode trebale bi se podudarati sa preporučenom ICSH metodom koja koristi Na-citrat.

Cilj. Analitička procjena automatskog analizatora Roller 20PN.

Materijali i metode. Za provođenje analize koristili smo 172 uzorka krvi bolničkih i ambulantnih pacijenata (104 žene i 68 muškaraca) paralelno vađenih u epruvete s Na-citratom i EDTA antikoagulansom u periodu od mjesec dana. Brzina sedimentacije je određena preporučenom ICSH metodom po Westergrenu i na automatskom analizatoru Roller 20PN tvrtke ALIFAX. Westergrenova metoda mjeri taloženje eritrocita u milimetrima kroz sat vremena iz krvi vađene na Na-citrat. SE se može određivati iz pune krvi čime izbjegavamo vađenje dodatnog uzorka krvi. Roller 20PN je automatski analizator koji mjeri brzinu SE eritrocita iz malih volumena pune krvi (EDTA) koristeći metodu kapilarne fotometrije koja mjeri kinetiku aglutinacije eritrocita.

Za statističku obradu koristili smo programe Microsoft Excel i Medcalc.

Rezultati. Prosječne vrijednosti SE određene metodom po Westergrenu (median SE=8)(2-120) su niže za 6.5 od prosječnih vrijednosti određenih iz uzorka pune krvi na uređaju Alifax Roller 20PN (median SE=14.5)(1-121). Također, Spearmanov koeficijent korelacije ($\rho=0.822$; $P<0.0001$) ukazuje nam na slabu korelaciju između dviju metoda. Provođenjem usporednih određivanja linearnom regresijskom analizom po Passing-Babloku dobili smo $y = 0.6667x + 0.0000$.

Zaključak. Iako određivanje brzine sedimentacije u uzorku pune krvi na uređaju Roller 20PN ima prednost u odnosu na određivanje SE po Westergrenu jer skraćuje vrijeme analize i koristi istu epruvetu za SE i kompletnu krvnu sliku, dobiveni rezultati razlikuju se od rezultata dobivenih Westergren metodom. Uspostavljanje referentnih intervala s obzirom na metodu i vrstu uzorka nužno je prije uvođenja u rutinski rad.

Ključne riječi. SE eritrocita, Westergren, automatski analizator za određivanje brzine sedimentacije

DIJAGNOSTIČKA VAŽNOST ANALIZE PLEURALNOG IZLJEVA KOD BOLESNIKA S PNEUMONIJOM I KARCINOMOM PLUĆA

D. Vrzić¹, J. Burkovac¹, G. Pavliša², D. Rogić¹, I. Rako¹

¹Klinički bolnički centar Zagreb, Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku, Zagreb, Hrvatska; ²Klinički bolnički centar Zagreb, Klinika za plućne bolesti Jordanovac, Zagreb, Hrvatska

Uvod: Određivanje vrste pleuralnog izljeva važno je za odabir terapije kod pulmoloških bolesnika. Za razlikovanje eksudata od transudata danas se koristi gradijent albumina i kriteriji po Lightu koji podrazumijevaju određivanje ukupnih proteina i laktat dehidrogenaze (LDH) u pleuralnom izljevu te njihovih omjera u pleuralnom izljevu u odnosu na plazmu. U našoj ustanovi, analiza pleuralnog izljeva najčešće se zahtijeva kod bolesnika s pneumonijom i karcinomom pluća (Ca-pluća).

Cilj: Cilj ovog rada bio je odrediti ukupan broj i vrstu analiziranih pleuralnih izljeva kod bolesnika s pneumonijom i karcinomom pluća koji su liječeni tijekom prošle godine u našoj ustanovi, te usporediti vrijednosti za pojedine parametre između te dvije skupine bolesnika.

Metode: U istraživanje je bilo uključeno ukupno 75 bolesnika: 20 bolesnika s pneumonijom (12 muškaraca - medijan dobi = 73; 40-88 i 8 žena - medijan dobi = 60; 33-88) i 55 bolesnika s karcinomom pluća (40 muškaraca - medijan dobi = 67; 48-85 i 15 žena - medijan dobi = 67; 37-92). Koncentracija ukupnih proteina i albumina (kolorimetrijska metoda) te aktivnost LDH (fotometrijska metoda) u plazmi i pleuralnom izljevu određena je na automatiziranom biokemijskom analizatoru Cobas c311 (*Roche Diagnostics*). Iz dobivenih rezultata izračunati su omjeri ukupnih proteina i LDH u pleuralnom izljevu u odnosu na plazmu (kriteriji po Lightu), te gradijent albumina.

Rezultati: U obje skupine bolesnika, prema spomenutim kriterijima dijagnosticiran je podjednak broj eksudata (90 %) i transudata (10 %). Srednja vrijednost koncentracije proteina u pleuralnom izljevu (Ca-pluća 37 g/L vs pneumonija 38 g/L), omjera proteina u pleuralnom izljevu u odnosu na plazmu (Ca-pluća 0,6 vs pneumonija 0,5) te gradijenta albumina (Ca-pluća 13 vs pneumonija 12) nije se razlikovala između dvije skupine bolesnika. Međutim, srednja vrijednost za aktivnost LDH u pleuralnom izljevu (Ca-pluća 831 U/L vs pneumonija 1534 U/L) kao i omjer aktivnosti LDH u pleuralnom izljevu u odnosu na plazmu (Ca-pluća 3,1 vs pneumonija 6,9) je duplo veća u skupini bolesnika s pneumonijom u odnosu na bolesnike s karcinomom pluća.

Zaključak: Kod bolesnika s karcinomom pluća i pneumonijom pleuralni izljev najčešće se karakterizira kao eksudat. Na osnovi biokemijskih parametara možemo zaključiti da su te dvije skupine bolesnika usporedive prema koncentraciji proteina u pleuralnom izljevu, omjeru proteina pleuralni izljev/plazma i gradijentu albumina. Međutim, izljeve bolesnika s pneumonijom karakterizira prosječno viša aktivnost LDH kao i veći omjer LDH pleuralni izljev/plazma u odnosu na izljeve kod karcinoma pluća, što je očekivano s obzirom na upalnu etiologiju pneumonije.

Ključne riječi: pleuralni izljev, transudat, eksudat, karcinom pluća, pneumonija

ODREĐIVANJE KONCENTRACIJE KARCINOEMBRIONALNOG ANTIGENA KOD ZDRAVIH DOBROVOLJACA, PUŠAČA I NEPUŠAČA, NA IMUNOKEMIJSKOM ANALIZATORU ROCHE COBAS E 411

Ž. Balog, Ž. Bukovec Megla, V. Vidranski

Klinički bolnički centar Sestre milosrdnice, Klinika za onkologiju i nuklearnu medicinu, Laboratorij za tumorske biljege

UVOD: Karcinoembrionalni antigen (eng. *carcinoembryonic antigen*, CEA), još zvan i CEA srodna molekula međustanične adhezije (eng. *carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 5*, CEACAM5) je glikoprotein koji pripada imunoglobulinskoj superobitelji. Prisutan je u tkivu probavnog trakta fetusa te se njegova proizvodnja smanjuje prije rođenja. Povišene koncentracije CEA su nađene u serumu osoba s rakom debelog crijeva i pojedinim drugim vrstama raka kao i kod nekih benignih stanja. Tipično, više razine CEA se mogu naći u muškaraca, pušača i starijih osoba. Mjerenje koncentracije CEA pomaže kod probiranja populacije (eng. *screening*), procjene stanja bolesti te u određivanju uspjeha terapije.

CILJ STUDIJE: Cilj istraživanja bio je provjeriti primjenjivost referentnih vrijednosti serumskog CEA koje je preporučio proizvođač analizatora Cobas e 411 i reagensa – firma Roche Diagnostics na uzorak populacije Republike Hrvatske. Također je istraženo postojanje razlike u koncentracijama spomenutog biljega između pušača i nepušača.

ISPITANICI I METODE: U istraživanju je sudjelovalo 100 zdravih ispitanika medijana dobi 35 (18 - 72) godina kojima je izmjerena prosječna serumska koncentracija CEA od 1,9 (0,2 - 7,7) $\mu\text{g/L}$, s tim da je 71% ispitanika imalo koncentraciju serumskog CEA ispod 2,5 $\mu\text{g/L}$, 26% ih je imalo vrijednosti između 2,5 $\mu\text{g/L}$ i 5,2 $\mu\text{g/L}$ dok je svega 3% ispitanika imalo koncentracije preko 5,2 $\mu\text{g/L}$.

Uzorci seruma dobrovoljaca analizirani su na automatiziranom imunokemijskom analizatoru Cobas e 411, (Roche Diagnostics GmbH, Penzberg, Njemačka) koji primjenjuje princip elektrokemiluminiscencije u detekciji CEA.

REZULTATI: Utvrđeno je postojanje statistički značajne razlike između koncentracijama CEA zdravih pušača ($2,44 \pm 1,56 \mu\text{g/L}$) i zdravih nepušača ($1,43 \pm 0,97 \mu\text{g/L}$) ($p=0,0002$, $CI=95\%$). Navedeni rezultati ukazuju kako postoji potreba za jasnim definiranjem pušača i nepušača pri analizi i izdavanju nalaza tumorskog biljega CEA na analizatoru Cobas e 411, odnosno upotrebi dvostrukih referentnih vrijednosti: za nepušače i za pušače kako bi se smanjila mogućnost netočne interpretacije rezultata.

ZAKLJUČAK: Opažanja ovog istraživanja je potrebno dodatno potvrditi na većem uzorku ispitanika i prema smjernicama za uspostavu referentnih intervala Instituta za kliničke i laboratorijske standarde, u cilju daljnjeg definiranja referentnih vrijednosti za koncentraciju CEA u populaciji Republike Hrvatske.

Ključne riječi: karcinoembrionalni antigen (CEA), pušači, referentne vrijednosti, Cobas e 411

ODREĐIVANJE KONCENTRACIJE KLORIDA U KRVI KAO POKAZATELJA UTAPANJA U MORSKOJ ILI SLATKOJ VODI

B. Brnčić¹, D. Cuculić², A. Ferenčić², S. Arbanas², V. Stemberga²

¹KBC Rijeka, Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku, Rijeka, Hrvatska; ²Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci, Zavod za sudsku medicinu i kriminalistiku, Rijeka, Hrvatska

Uvod: Određivanje koncentracije klorida u krvi kao pokazatelja utapanja u morskoj ili slatkoj vodi jedna je od laboratorijskih pretraga koja se po potrebi provodi u sudsko-medicinskoj praksi. Laboratorijska dijagnostika utapanja bazira se na prodoru aspirirane tekućine u pluća te kroz alveolarnu membranu u plućne venule i vene i lijevu stranu srca. Zbog prodora tekućine u lijevu stranu srca, krv iz lijeve strane srca pokazivat će niz fizikalno-kemijskih promjena, dok kod krvi iz desne strane srca neće biti promjena. Jedna od glavnih anorganskih negativno nabijenih čestica u morskoj i slatkoj vodi su kloridi u obliku iona.

Cilj studije: Utvrđivanje značaja laboratorijske dijagnostike u određivanju koncentracije klorida u krvi lijeve i desne strane srca kao pokazatelja utapanja u morskoj ili slatkoj vodi.

Metode: Retrospektivno istraživanje provedeno je za desetogodišnje razdoblje (2006.-2015.) na Zavodu za sudsku medicinu i kriminalistiku Medicinskog fakulteta u Rijeci i obuhvaća 122 pokojnika kojima je obdukcijom utvrđen uzrok smrti utapanjem. Od ukupnog broja ispitanika kod 77 ispitanika je određena koncentracija klorida iz krvi lijeve i desne strane srca te su ti ispitanici podijeljeni u dvije skupine s obzirom na mjesto utapanja: ispitanici kojima je mjesto utapanja u morskoj vodi (N=63) i ispitanici kojima je mjesto utapanja u slatkoj vodi (N=14). Skupine su međusobno uspoređene na osnovu razlike koncentracije klorida lijeve i desne strane srca. Koncentracije klorida lijeve i desne strane srca određene su ion selektivnom elektrodom na biokemijskom analizatoru Beckman Coulter AU5800 (Beckman Coulter, SAD).

Rezultati: Uzrok smrti utapanjem iznosi 4% u odnosu na sveukupan broj pokojnika tijekom desetogodišnjeg razdoblja. Broj utopljenika muškog spola dvostruko je veći od broja utopljenika ženskog spola, dok je najbrojnija dobna skupina od 45-64 godina. Tijekom ljetnih mjeseci broj utopljenika je bio najveći, a najčešće mjesto utapanja je bilo u morskoj vodi. Na osnovu razlike koncentracije klorida lijeve i desne strane srca dokazana je statistički značajna razlika između utopljenika koji su se utopili u morskoj i slatkoj vodi ($P < 0,0001$).

Zaključak: Ova studija potvrđuje sudsko-medicinski značaj laboratorijske dijagnostike u određivanju koncentracije klorida u krvi lijeve i desne strane srca kao pokazatelja utapanja u morskoj ili slatkoj vodi.

Ključne riječi: utapanje, kloridi, lijeva strana srca, desna strana srca

DOKAZIVANJE AUTOANTITIJELA NA GLATKU MUSKULATURU METODOM IIF U DIJAGNOSTICI AUTOIMUNOG HEPATITISA

M. Jović¹, A. Coce Zec¹, A. Kozmar¹, N. Tomić Sremec¹

¹KBC Zagreb, Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku, Zavod za imunologiju, Zagreb, Hrvatska

Uvod

Autoimune bolesti posljedica su imunoreakcije protiv vlastitih antigena. Autoimune bolesti jetre su: autoimuni hepatitis (AIH), primarni bilijarni kolangitis i primarni sklerozirajući kolangitis. U bolesnika s autoimunim hepatitisom primarna ciljna stanica autoantitijela je hepatocit, dok je kod primarnog bilijarnog kolangitisa i primarnog sklerozirajućeg kolangitisa to epitel žučnih vodova.

Cilj studije

Glavna cirkulirajuća antitijela u AIH-u, iako ne visoko specifična, su antitijela na glatku muskulaturu (AGLM), antinuklearna antitijela (ANA), antitijela na mikrosome bubrega i jetre (LKM-1) i antitijela na jetreni citosol (LC-1). Smatra se da navedena antitijela nisu ključna u patogenezi AIH-a, te je tim njihova glavna uloga u dijagnostici i klasifikaciji bolesti. Na temelju nalaza stanovitih antitijela AIH se klasificira u dva tipa: AIH tip 1 (klasični tip) i AIH tip 2. Klasični AIH karakteriziraju cirkulirajuća ANA i/ili AGLM. Titar AGLM 1:320 i veći uzima se kao dokaz prisutnosti AIH specifičnijih antiaktinskih antitijela (AAA). AIH tip 2 definiran je prisutnošću LKM-1 i/ili LC-1 antitijela.

Metoda dokazivanja

Najčešća metoda pretraživanja na AGLM je metoda indirektno imunofluorescencije (IIF). To je serološka metoda kojom se opaža reakcija antigen-antitijelo na temelju antitijela obilježenih fluorescentnim tvarima (FITC-om) koja fluoresciraju zeleno čime reakcija postaje vidljiva pod fluorescentnim mikroskopom. Kao izvor antigena koristimo štakorski želudac. Preparate želuca pripremamo sami rezanjem štakorskog želuca i postavljanjem rezova na predmetna stakla. Rezovi debljine 4 µm se pripremaju na kriostatu - aparatu za rezanje ukalupljenih dijelića tkiva. Za rezanje tkiva kriostatom potreban pribor je: kriostat, ljepilo za tkiva, fini kistovi, britvice, silanizirana stakla, pamučne rukavice. Nakon pripremljenih preparata slijedi postupak obilježavanja preparata metodom IIF. Materijali potrebni za IIF su: PBS pufer koji se koristi za razrjeđivanje uzoraka seruma i ispiranje stakalaca, zatim sekundarno antitijelo (gama-globulin) obilježeno FITC-om, glicerol za prijanjanje pokrovnog stakalca na preparat. Tako pripremljeni preparati analiziraju se pod fluorescentnim mikroskopom.

Zaključak

Metoda IIF na preparatima štakorskog želuca danas je standardna metoda za pretraživanje seruma na antitijela na glatku muskulaturu. Osim prisutnosti AGLM bitno je izvijestiti i o titru AGLM, budući da i vrlo niski titrovi kod djece mogu biti indikativni za AIH, a vrijednost titra je vrlo korisna i u raznim korištenim „scoring“ sistemima.

Ključne riječi: AIH, antitijela na glatku muskulaturu

ODREĐIVANJE ANTITIJELA NA MPO, PR3 I GBM ANTIGENE IMUNOBLLOT I LUMINEX METODOM

A. Lažeta, Lj. Ercegović

Klinički bolnički centar Split, Zavod za medicinsko laboratorijsku dijagnostiku, Split, Hrvatska

UVOD: Određivanje antitijela na antigene citoplazme neutrofilnih granulocita (ANCA) važno je u laboratorijskoj dijagnostici i praćenju ANCA pozitivnih vaskulitisa. Metoda pretraživanja na ANCA antitijela je indirektna imunofluorescencija na humanim neutrofilnim granulocitima fiksiranim etanolom. Potvrđim imunokemijskim testovima se određuju ciljni antigeni ANCA antitijela, antitijela na mijeloperoksidazu (MPO) i antitijela na proteinazu 3 (PR3). Antitijela usmjerena na glomerularnu bazalnu membranu (GBM) prisutna su kod pacijenata s Goodpasture sindromom. U određivanje antitijela na GBM i potvrđi specifičnosti PR3 i MPO antitijela primjenjuju se razne imunokemijske metode (npr. ELISA, imunoblot, Luminex test s mikrokuglicama).

CILJ STUDIJE: Cilj studije je bio usporediti podudarnost rezultata dobivenih dvama potvrdnim testovima za istovremeno određivanje antitijela na PR3, MPO i GBM antigene. Rezultati dobiveni imunoblot testom MPO/PR3/GBM Profile (Euroimmun) uspoređeni su s rezultatima dobivenim rutinski korištenom multipleks metodom s obilježenim mikrokuglicama, Fidis Vasculitis testom na analizatoru Luminex (Theradiag).

METODE: Uspoređeni su rezultati 12 uzoraka pacijenata koji su upućeni u naš laboratorija s naznakom za hitno određivanje ANCA i anti-GBM antitijela. Oba testa istovremeno određuju prisutnost sva tri navedena antitijela u uzorku. Imunoblotom se dobiva kvalitativan rezultat dok su rezultati s analizatora Luminex kvantitativni.

REZULTATI: U 12 uzoraka s obje metode dobili smo identične rezultate antitijela na GBM: 9 negativnih, 1 granični i 2 pozitivna nalaza. Gotovo svi uzorci su imali negativna antitijela na PR3 (11/12), osim jednog uzorka koji je bio graničan imunoblot metodom, a pozitivan metodom na Luminexu. Oba su testa jednako klasificirala sve negativne uzorke za MPO antitijela (7/12). Jedan granični nalaz MPO antitijela dobiven imunoblotom bio je pozitivan na Luminexu dok je drugi pozitivan nalaz imunoblota bio graničan na Luminexu. Preostala tri pozitivna nalaza MPO antitijela podudarala su se s obje metode.

ZAKLJUČAK: Rezultati usporedbe pokazali su prihvatljivu usporedivost za sva tri antitijela. Mala odstupanja primijećena su kod graničnih vrijednosti za pojedina antitijela. Na temelju dobivenih rezultata usporedbe imunoblot metode s rutinski primjenjivanom metodom na analizatoru Luminex zaključili smo da je test prihvatljiv kao alternativna metoda u određivanju antitijela na MPO, PR3 i GBM antigene. Zbog istovremene detekcije sva tri antitijela i mogućnosti analiziranja pojedinačnih uzoraka, test se pokazao vrlo praktičnim kod zahtjeva za hitnom analizom. Budući da se radi o kvalitativnom testu, sve pozitivne uzorke određujemo i kvantitativnim testom na analizatoru Luminex kako bi se mogao pratiti titar antitijela.

KLJUČNE RIJEČI: MPO, PR3, GBM, antitijela, imunoblot, Luminex

FUNGALNI BIOMARKERI U KLINIČKOM BOLNIČKOM CENTRU ZAGREB

A. Pešut¹, M. Markanović¹, S. Pleško¹, I. Mareković^{1,2}

¹Klinički bolnički centar Zagreb, Klinički zavod za kliničku i molekularnu mikrobiologiju, Zagreb, Hrvatska; ²Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb, Hrvatska

Uvod: Invazivne gljivične infekcije (IFI) značajan su uzrok morbiditeta i mortaliteta zbog sve većeg broja imunokompromitiranih bolesnika. Kultivacija uzročnika ima nisku osjetljivost i traje nekoliko dana. Za postavljanje definitivne dijagnoze potrebno je dobivanje invazivnog uzorka što zbog stanja bolesnika nije uvijek moguće. Zato se u dijagnostici pokušavaju primijeniti metode veće osjetljivosti za koje nije potrebno dobivanje invazivnog uzorka kao što je određivanje fungalnih biomarkera. Najčešće korišteni fungalni biomarkeri su galaktomanan (GM) i beta-D-glukan (BDG).

Cilj istraživanja: Cilj ovog istraživanja jest prikazati rezultate određivanja fungalnih biomarkera GM i BDG kod bolesnika hospitaliziranih u Kliničkom bolničkom centru Zagreb.

Metode: GM i BDG su sastavni dijelovi staničnog zida kod gljiva. GM se nalazi kod *Aspergillus* spp., dok se BDG nalazi u staničnom zidu većine gljive osim kod *Cryptococcus* spp. i gljiva reda *Mucorales*. Zbog toga se BDG naziva i panfungalnim biomarkerom. GM (Platelia *Aspergillus* Ag, Bio-Rad, France) je određivan u uzorcima seruma i bronhoalveolarnih lavata a BDG u uzorcima seruma (β -D-Glucan Fungitell, Cape Code Inc., USA) kod bolesnika sa sumnjom na invazivnu gljivičnu IFI.

Rezultati: Rezultati određivanja GM i BDG bit će prikazani s obzirom na spol, dob, osnovnu bolest te ostale kliničke karakteristike bolesnika te u odnosu na rezultate konvencionalnih dijagnostičkih metoda odnosno kultivacije.

Zaključak: Fungalni biomarkeri predstavljaju značajan napredak u dijagnostici IFI. Uvijek se moraju interpretirati u kontekstu kliničkih i radioloških nalaza bolesnika. Unatoč njihovim prednostima kultivacija i mikroskopski pregled uzorka uzetog s mjesta infekcije i dalje ostaju temelj mikološke dijagnostike IFI.

Ključne riječi: galaktomanan, beta-D-glukan, invazivne gljivične infekcije

ANALIZA REZULTATA DETEKCIJE HUMANIH PAPILOMA VIRUSA (HPV) METODAMA MOLEKULARNE DIJAGNOSTIKE U PERIODU 2014. - 2016. GODINE U KBC OSIJEK

A. Bugarin¹, N. Krajina¹, S. Tokić², D. Drenjančević^{1,2}, M. Samardžija^{1,2}, K. Kegalj², S. Marcz^{1,2}

¹Klinički bolnički centar Osijek, Klinički zavod za transfuzijsku medicinu, Laboratorij za molekularnu i HLA dijagnostiku, Osijek, Hrvatska; ²Medicinski fakultet Osijek, Sveučilište J.J. Strossmayera u Osijeku, Osijek, Hrvatska

Uvod: Humani papiloma virus je DNA virus bez lipidne ovojnice i pripada porodici Papillomaviridae. Otkriveno je više od 150 genotipova HPV-a. Prema onkogenom potencijalu otkriveni genotipovi HPV-a se klasificiraju u visokorizične i niskorizične.

Cilj istraživanja: Retrospektivna analiza rezultata kvalitativne detekcije HPV-a u periodu od 2014. - 2016. godine u KBC Osijek.

Materijali i metode: U rutinskom radu iz uzorka brisa vrata maternice 448 ispitanica izolirana je DNA i učinjena kvalitativna detekcija HPV-a kombinacijom metoda PCR-a i reverzne hibridizacije. Iz elektronske baze prikupljeni su podatci o dobi ispitanica, uputnoj dijagnozi i rezultatima testiranja. Podatci su obrađeni metodama deskriptivne statistike programskog paketa za statističku obradu Excel 2013.

Rezultati: U uzorku 226 ispitanica (50,9 %) nije dokazano prisustvo HPV-a. Ujedno ovo je skupina najstarijih ispitanica (39±11). Gotovo trećina (28,38 %) ispitanica bile su pozitivne na visokorizični genom HPV-a, od toga 39,7 % njih nosilo je visokorizični HPV tip 16, a 9,7 % visokorizični HPV tip 18. Samo jedan uzorak bio je pozitivan na oba visokorizična tipa HPV-a, 16 i 18. U uzorku ispitanica (15,31 %) kod kojih je dokazan i visoko i niskorizični genom, njih 77,8 % nosilo je neki od visokorizičnih tipova HPV-a. U uzorku ispitanica (5,41 %), koje su činile najmlađu dobnu skupinu (34±11), dokazan je niskorizični genom HPV-a.

Analizirajući raspodjelu visoko i niskorizičnih tipova HPV-a u ukupnom broju pozitivnih uzoraka uočava se da je učestalije prisustvo visokorizičnih tipova HPV-a kod uputnih dijagnoza: Opći ginekološki pregled (92,86 %), *Dysplasia cervicis uteri* (88,89 %), CIN III (85,71 %). Kod svih (100 %) pozitivnih ispitanica s uputnom dijagnozom *Karcinoma in situ* vrata maternice, CIN I, CIN II, ulcerozni kolitis/ Crohnova bolest dokazano je prisustvo nekog od visokorizičnih tipova HPV-a.

Zaključak: Rezultati provedenog retrospektivnog istraživanja u skladu su dostupnim literaturnim podacima.

Ključne riječi: HPV, PCR, hibridizacija

MIKROBIOLOŠKA DIJAGNOSTIKA IZOLATA BHS-B U TRUDNICA U OSJEČKO-BARANJSKOJ ŽUPANIJI

D. Kopjar¹, T. Pastuović¹, M. Perić¹, M. Bogdan¹, M. Zelić¹

¹ Zavod za javno zdravstvo Osječko-baranjske županije

UVOD

Beta-hemolitički streptokok grupe B (BHS-B, *Streptococcus agalactiae*) značajan je uzročnik neonatalnih i postneonatalnih infekcija. Najefikasnije sredstvo u sprečavanju ovih infekcija je probir trudnica na kolonizaciju bakterijom i posljedična antibiotska terapija pri porodu.

CILJ STUDIJE

Cilj ove studije je retrospektivnom analizom utvrditi učestalost izolata beta-hemolitičkog streptokoka grupe B i odrediti njihovu antimikrobnu osjetljivost u petogodišnjem razdoblju u Osječko-baranjskoj županiji.

METODE

Dostavljeni uzorci obrisaka rodnice i ano-rektalnog područja trudnica između 35. i 37. tjedna trudnoće analizirani su u mikrobiološkoj službi Zavoda za javno zdravstvo Osječko-baranjske županije prema CDC (Centre for Disease Control, Atlanta, USA) smjernicama koje preporučaju obogaćivanje i upotrebu selektivnih podloga.

REZULTATI

Ovim je istraživanjem u petogodišnjem periodu (od 01.01.2013. do 31.12.2017.) analizirano 18 500 uzoraka. Od ukupnog broja pristiglih, pozitivno je bilo 607 uzoraka (3,28%).

ZAKLJUČAK

Učestalost kolonizacije trudnica s beta hemolitičkim streptokokom grupe B u našoj županiji je 3,28%, te je niža od svjetskih rezultata koji iznose 10-30%.

KLJUČNE RIJEČI: BHS-B, *Streptococcus agalactiae*, trudnoća, neonatalna infekcija

PREVALENCIJA KRVLJU PRENOSIVIH VIRUSA NAKON UBODNOG INCIDENTA KOD ISPITANIKA U ISTARSKOJ ŽUPANIJI

J. Sanković, J. Kučinar, M. Ostović, I. Perdec-Stamenković, M. Vranić-Ladavac

Zavod za javno zdravstvo Istarske županije, Služba za mikrobiologiju, Pula, Hrvatska

Uvod

Ubodni incident je svaka perkutana ozljeda nastala nakon uboda na iglu ili posjekotina oštrim predmetom koja dovodi do kontakta sa krvlju ili ostalim potencijalno zaraznim tjelesnim tekućinama. Najčešći uzročnici koji se mogu takvim putem prenijeti jesu virus hepatitisa B (HBV), virus hepatitisa C (HCV) te virus humane imunodeficijencije (HIV).

Hrvatska pripada skupini zemalja sa niskom prevalencijom na HBV, HCV i HIV infekciju. U rizične skupine koje su najviše izložene ubodnim incidentima ubrajaju se zdravstveni djelatnici, a među njima je incidencija 0,64 po djelatniku godišnje. Osim zdravstvenih djelatnika ubodnom incidentu su izložene i druge djelatnosti: policajci, vatrogasci, osoblje zaduženo za čišćenje, kao i radnici ili osobe koje pri boravku na otvorenom mogu doći u kontakt sa odbačenim i potencijalno kontaminiranim iglama te oštrim predmetima.

Cilj

Cilj ovog istraživanja je bio prikazati prevalenciju krvlju prenosivih virusa kod testiranih osoba nakon ubodnog incidenta u Istarskoj županiji u 2017. godini.

Materijal i metode

U periodu od 1.1.2017. god. do 31.12.2107. god. testirano je ukupno 70 seruma dobivenih iz pune venske krvi ispitanika. Uzorci su testirani na biljege HBV, HCV i HIV infekcije imunoenzimskom (ELISA) metodom (Biokit, Barcelona, Spain). Inicijalno reaktivni uzorci su potvrđeni enzimskom imunofluorescentnom (ELFA) metodom (Vidas, bioMerieux, Marcy l'Etoile, France) i imunoblot testom (Inno-Lia HCV Score, Fujirebio Europe, Gent, Belgium).

Rezultati

Testirano je 70 ispitanika u dobi od 6 do 69 godina; 50 (71%) je bilo ženskog, a 20 (29%) muškog spola. Većina testiranih je grupirana u dobnoj skupini od 20 do 49 godina (75,7%), koja pripada radno aktivnom stanovništvu.

Anti HBs pozitivnih uzoraka je bilo 44 (62,8%), anti HBc pozitivnih uzoraka je bilo 4 (5,7%) i 1 pozitivan anti HCV (1,5%). Anti HBs pozitivni ispitanici su vrlo vjerojatno već cijepljeni u redovnom programu, kao i rizične skupine. Jedina anti HCV pozitivna osoba je poznata i potvrđena od prije, tako da ta infekcija nije vezana uz parenteralni incident.

Niti jedan uzorak nije bio pozitivan na HBs Ag i na HIV AgAb.

Zaključak

Broj testiranih ispitanika u godini dana je relativno malen u odnosu na procijenjen broj ubodnih incidenata u Hrvatskoj (32.000) jer većinom ostanu neprijavljeni.

Treba nastaviti i inzistirati na pravovremenom testiranju na krvlju prenosive viruse kod ubodnih slučajeva zbog pravovremene dijagnoze i postekspozicijske profilakse.

Ključne riječi: ubodni incident, HBV, HCV, HIV.

BIOLOŠKA KONTROLA STERILIZACIJE U NASTAVNOM ZAVODU ZA JAVNO ZDRAVSTVO PRIMORSKO-GORANSKE ŽUPANIJE

G. Šarar, L. Klausberger, N. Sučić, M. Farkaš, B. Pružinec-Popović

Nastavni zavod za javno zdravstvo Primorsko-goranske županije, Mikrobiološki odjel

UVOD: Sterilizacija je postupak potpunog uništavanja ili uklanjanja svih oblika mikroorganizama uključujući i njihove spore određene lokacije ili materijala. Ovisno o vrsti materijala koji je potrebno podvrgnuti postupku sterilizacije, koristi se: sterilizacija suhom toplinom, vlažnom toplinom, žarenjem, zračenjem (ionizirajuće i ultraljubičasto), filtriranjem, plinska sterilizacija (etilen-oksidi i ozon) te sterilizacija plazmom. Za sterilizaciju instrumenata i pribora koji se koristi u medicinske svrhe najčešće se primjenjuje sterilizacija suhom toplinom u suhim sterilizatorima i sterilizacija vlažnom toplinom pod tlakom u autoklavima. Kako bi se osigurala sterilnost pribora koji je prošao postupak sterilizacije u suhim sterilizatorima i autoklavima, nužna je kontrola rada uređaja, odnosno kontrola uspješnosti sterilizacije. U svrhu kontrole postupka sterilizacije najučinkovitija je biološka kontrola sterilizacije (kontrola sporama). Biološkoj kontroli autoklava i suhih sterilizatora podliježu sve zdravstvene ustanove, ali i ustanove za njegu i smještaj starijih i nemoćnih osoba, saloni za tetoviranje, odnosno sve djelatnosti koje u svojem radu koriste autoklav ili suhi sterilizator. U Republici Hrvatskoj ne postoji zakonska obveza provođenjakontrole sterilizacije, no Hrvatska udruga medicinske sterilizacije uz druga državna i međunarodna tijela preporučuje redovnu uporabu bioloških indikatora u kontroli sterilizacije.

CILJ STUDIJE: Cilj rada je utvrditi postotak pozitiviteta u jednogodišnjem razdoblju.

METODE: Za biološku kontrolu sterilizacije koriste se spore visoko otpornih bakterija u koncentraciji znatno većoj nego što bi ona mogla biti na predmetima koji se steriliziraju. Uništenje navedenih spora dokaz je uspješnosti sterilizacije. U Nastavnom zavodu za javno zdravstvo Primorsko-goranske županije(NZZJZ PGŽ) biološka kontrola sterilizacije se provodi kultivacijom komercijalnih bioloških indikatora BIONOVA BT60-3, argentinskog proizvođača Terragene koje sadrže spore *Geobacillusstearothermophilus* ATCC 7953 i *Bacillusatrophaeus* ATCC 9372, koji su podvrgnuti su postupku sterilizacije u autoklavu ili suhom sterilizatoru.

REZULTATI: Tijekom 2017. godine u NZZJZ PGŽ obrađena su 693 uzorka spora, a statistička obrada rezultata testiranja provedena računalnim programom MedCalc.

ZAKLJUČAK: Mali broj pozitivnih nalaza ukazuje na ispravnost uređaja, ali i na ispravno provođenje postupaka sterilizacije koji su ključni u prevenciji širenja zaraze.

KLJUČNE RIJEČI: sterilizacija, spore, suhi sterilizator, autoklav

EPIDEMIOLOGIJA I OSJETLJIVOST *S.pyogenes* U OSJEČKO-BARANJSKOJ ŽUPANIJI U PERIODU 2012.-2017. GODINE

M. Zelić¹, T. Pastuović¹, M. Perić¹, D. Kopjar¹, M. Bogdan¹

¹ Zavod za javno zdravstvo Osječko-baranjske županije

UVOD

Beta hemolitički streptokok grupe A (BHS-A, *Streptococcus pyogenes*) značajan je uzročnik infekcija respiratornog sustava. Lijek izbora u liječenju nastalih infekcija je penicilin kroz deset dana, a u preosjetljivih makrolidi ili klindamicin.

CILJ STUDIJE

Cilj ove studije je retrospektivnom analizom utvrditi učestalost izolata beta-hemolitičkog streptokoka grupe A i njihovu antimikrobnu osjetljivost u razdoblju od šest godina u Osječko-baranjskoj županiji.

METODE

Obrisci ždrijela inokulirani su na krvni agar i inkubirani pri 37 C° u atmosferi s 3-5% CO₂. Hranilišta su nakon 24 i 48 h inkubacije pregledavana na sumnjive kolonije s beta hemolizom kojima su u daljnjem postupku utvrđena osjetljivost na antibiotike.

REZULTATI

Ovim istraživanjem u šestogodišnjem razdoblju obuhvaćeno je 19 607 obrisaka ždrijela. U 1092 (5,57%) izoliran je beta-hemolitički streptokok grupe A. Ispitivani sojevi su prosječno u 6,96% bili otporni na eritromicin (makrolide), odnosno 7,23% klindamicin.

ZAKLJUČAK

Primjena penicilina i dalje ostaje prvi lijek izbora u liječenju streptokoknih infekcija jer rezistencija na penicilin još nije opisana. Prosječna rezistencija streptokoka na makrolide i klindamicin iznosi oko 7%.

KLJUČNE RIJEČI: BHS-A, *Streptococcus pyogenes*, ždrijelo, makrolidi

DIJAGNOSTIČKI PRISTUP *CLOSTRIDIUM DIFFICILE* INFEKCIJAMA

M. Vareškić, V. Divjak, Z. Vezmar, M. Abram

Klinički zavod za kliničku mikrobiologiju, Klinički bolnički centar Rijeka, Hrvatska

UVOD: *Clostridium difficile* je sporogeni, gram-pozitivni anaerobni štapić koji predstavlja dio normalne mikrobiote crijeva u 80% male djece, te <5% odraslih. Patogeni sojevi posjeduju dva činitelja virulencije: toksin A (enterotoksin) i toksin B (citotoksin). Kliničke manifestacije *C. difficile* infekcije (CDI) kreću se od asimptomatske kolonizacije do teških oblika dijarealnih bolesti, pseudo-membranoznog kolitisa, te fulminantnog kolitisa s razvojem toksičnog megakolona i moguće perforacije crijeva.

Veća učestalost CDI tumači se pojavom hipervirulentnog soja ribotip 027 (NAP1/027) koji nastaje mutacijom gena koji regulira sekreciju toksina. NAP1/027 karakteriziran je jačom produkcijom toksin (binarni toksin) te rezistencijom na fluorokinolone. Danas se smatra da je CDI jedna od najučestalijih infekcija povezanih sa zdravstvenom skrbi.

CILJ STUDIJE: Cilj istraživanja bio je ispitati osjetljivost imunokromatografskog testa koji ima određena ograničenja te pojedine rezultate nadopuniti molekularnom metodom.

ISPITANICI I METODE: Istraživanje je provedeno retrospektivno na ukupno 753 hospitaliziranih bolesnika u KBC Rijeka u razdoblju od 1. siječnja do 31. prosinca 2017. u kojih je postojala klinička sumnja na CDI. U istraživanje su uključeni svi odrasli bolesnici s navršениh 18 godina. Za dokazivanje *C. difficile* u stolici korišten je imunokromatografski test za detekciju antigena u stolici (BioGnost). Uzorcima koji su pokazali pozitivnu reakciju na antigen određen je toksin A i B pomoću imunokromatografskog testa (BioGnost). Uzorci koji su pokazali negativan rezultat na toksin testirani su molekularnom metodom PCR (GeneXpert).

REZULTATI: Od ukupno 753 obrađenih uzoraka stolice, imunokromatografskim testom detektiran je antigen *C. difficile* u 138 (18%) bolesnika, dok je 615 (82%) uzoraka bilo negativno. Među 138 antigen pozitivnih uzoraka, imunokromatografskim testom detektirani su toksini A i/ili B u 87 (63%) slučajeva, dok ih je 51 (37%) bilo negativno. Među antigen pozitivnim, toksin negativnim uzorcima molekularnom metodom je u 35 (69%) slučajeva dokazano prisustvo gena za produkciju toksina, od čega se u 14 (40%) uzoraka radilo o binarnom toksinu tj. NAP1/027 soju.

ZAKLJUČAK: Za nastanak CDI potrebno je nekoliko preduvjeta: prethodna antimikrobna terapija, prijenos *C. difficile* fekalno-oralnim putem, osjetljivost zaražene osobe te virulencija soja. Brza i točna dijagnoza CDI je preduvjet dobre prevencije. Za brzu i dobru dijagnozu preporuča se slijediti algoritam u dva ili tri koraka, npr. probir uz imunokromatografski test te nadopuna uz molekularnu metodu. Glavna i najjednostavnija mjera prevencije je pranje ruku bolničkog osoblja.

Ključne riječi: *Clostridium difficile*, toksin, imunokromatografski test, PCR

KNOWLEDGE ON SEXUALLY TRANSMITTED DISEASES IN PROFESSIONALS OF A PORTUGUESE HOSPITAL

Gonçalves A¹, Martins A², Rocha C³, Martins D^{1,4}, Andrade I³, Martins M⁵, Vidas P⁶, Polónio P⁷, Mendes F.^{1,8,9,10}

¹Department Biomedical Laboratory Sciences, ESTESC- Coimbra Health School, Polytechnic Institute of Coimbra, Coimbra, Portugal; ²Department of Physiotherapy, ESTESC- Coimbra Health School, Polytechnic Institute of Coimbra, Coimbra, Portugal; ³Department of Complementary Sciences, ESTESC- Coimbra Health School, Polytechnic Institute of Coimbra, Coimbra, Portugal; ⁴Instituto de Investigação e Inovação em Saúde (I3S), University of Porto, Porto, Portugal; ⁵Urgency Service, Hospital Distrital da Figueira da Foz E.P.E., Figueira da Foz, Portugal; ⁶Cardiology Service, Hospital Distrital da Figueira da Foz E.P.E., Figueira da Foz, Portugal; ⁷Laboratory Medicine Hospital, Hospital Distrital da Figueira da Foz E.P.E., Figueira da Foz, Portugal; ⁸Biophysics Institute-CNC.IBILI, Faculty of Medicine, University of Coimbra, Coimbra, Portugal; ⁹Center of Investigation in Environment, Genetics and Oncobiology (CIMAGO), Faculty of Medicine, University of Coimbra, Coimbra, Portugal; ¹⁰Coimbra Institute for Clinical and Biomedical Research (iCBR) / Instituto de Investigação Clínica e Biomédica de Coimbra, University of Coimbra, Coimbra, Portugal.

Background: According to WHO, 1 million sexually transmitted diseases (STDs) are acquired every day worldwide, having a high prevalence in the world's population. Therefore it's important to assess hospital professionals' knowledge on STDs, since they are the ones in direct contact with the patients, having the possibility to influence their behaviour.

Objective: Evaluate the STD knowledge in professionals of a Portuguese Hospital.

Methods: 171 individuals of the different professions of a medium size Portuguese Hospital answered an anonymous validated questionnaire about STDs.

Results: More than half of the sample (68.8%) has a high knowledge of STDs, with the majority being health professionals (60.6%). Individuals with a higher education degree were found to have a higher knowledge on STDs (61.9%), especially those with a higher education in health. Regarding gender, approximately a third of those with high knowledge (70.1%) are females. The age range among those with higher knowledge in STDs varied between 31 and 40 years old corresponding to 35.7% of the individuals with high knowledge.

Conclusions: Individuals with higher education, particularly in health sciences have higher knowledge in STDs. Gender and age seems to be a factor influencing the level of knowledge. The results show that more than half of the sample has a high knowledge in STDs, which is expected for this group of educated individuals. Maybe the hospital should provide specific education to the professionals to help improve these statistics.

Keywords: STD, Sexually Transmitted Diseases, risk behaviour, health professionals.

ODREĐIVANJE BROJA TRIPLETA CTG U MOLEKULARNOJ DIJAGNOSTICI MIOTONIČNE DISTROFIJE TIP 1 KAPILARNOM ELEKTROFOREZOM

K. Petrović¹, A. Acman-Barišić¹, H. Ljubić¹, A. Merkler¹, D. Caban¹, S. Škaro¹, J. Sertić^{1,2}

¹Klinički bolnički centar Zagreb, Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku, Zagreb, Hrvatska; ²Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb, Hrvatska

UVOD: Miotonična distrofija tipa 1 (MD1) je autosomno dominantno nasljedni multiorganski poremećaj koji može zahvatiti skeletne i glatke mišiće, očne leće, srce, endokrini, gastrointestinalni i centralni živčani sustav. Uzrok MD1 je povećanje broja tripleta CTG (dinamička mutacija) u genu za miotonin protein kinazu (DMPK) na 19. kromosomu. Postoje 3 moguća fenotipa bolesti: blagi, klasični i kongenitalni. U zdravih osoba broj ponavljanja tripleta CTG iznosi 5 - 34 i ostaje stabilan tijekom generacija. Kod oboljelih osoba ovaj je slijed produljen i sadrži više od 50 tripleta (čak i do nekoliko tisuća), a težina kliničke slike, kao i vrijeme javljanja bolesti povezani su s veličinom mutiranog alela u sklopu modela složenih korelacija genotipa i fenotipa. Osobe s 35 - 49 tripleta zdravi su prenositelji bolesti, odnosno nositelji tzv. premutacijskog alela.

CILJ: Cilj rada bio je odrediti broj CTG tripleta u skupini od 405 pacijenata upućenih na DNA analizu zbog kliničkih simptoma MD1 ili postojanja iste u obiteljskoj anamnezi.

METODE: Korištena je metoda PCR za utvrđivanje alela u normalnom rasponu nakon koje je slijedila analiza kapilarnom elektroforezom na uređaju Applied Biosystems 3130xl Genetic analyzer. U slučajevima kada je u ispitivanom uzorku DNA bio utvrđen samo jedan alel *DMPK* slijedila je analiza metodom TP-PCR (engl. *triplet repeat primed*). Ovom metodom moguće je utvrditi postojanje ekspaniranog alela ili isključiti njegovo prisustvo, no veličina samog alela određuje se metodom hibridizacije.

REZULTATI: Od 405 analiziranih DNA uzoraka utvrđeno je 55 uzoraka sa ekspaniranim alelom (13,6%) dok su 263 (64,9%) uzorka bili heterozigoti za alele u normalnom rasponu.

ZAKLJUČAK: Određivanje broja tripleta CTG u genu *DMPK* pomaže razumijevanju genetičkog mehanizma bolesti i postavljanju molekularne dijagnoze MD1. TP-PCR i fragmentarna analiza pomoću kapilarne elektroforeze su metode izbora za dijagnostiku MD1 zbog njihove točnosti i dijagnostičke osjetljivosti.

Ključne riječi: miotonična distrofija tipa 1, gen *DMPK*, TP-PCR

DIJAGNOSTIKA MIKRODELECIJSKIH SINDROMA

M. Kušpilić¹, K. Crkvenac Gornik¹, I. Tonković Đurišević¹, A. Bilić Pokupec¹, M. Gavran¹, A. Šušković¹

¹KBC Zagreb, Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku, Odjel za citogenetiku, Zagreb, Hrvatska

Uvod:

Skupina klinički prepoznatljivih entiteta obilježena malim delecijama kromosoma (<5Mb) poznata je pod nazivom mikrodelecijski sindromi. Poremećaj genoma kod većine je danas poznatih sindroma posljedica delecije specifične kromosomske regije uz gubitak skupine gena u zahvaćenom kromosomskom segmentu. Distribucija mikrodelecija u genomu čovjeka nije slučajna, već su aberacijama češće zahvaćene specifične kromosomske regije. To se posebno odnosi na skupinu mikrodelecijskih sindroma kao što su Smith-Magenis, Williams, Prader-Willi, DiGeorge i mnogi drugi poznati sindromi. Sindrom delecije 22q11.2 jedan je od najčešćih mikrodelecijskih sindroma s incidencijom od 1 na 4000 poroda. Mikrodelecija, del(22)(q11.2) se povezuje s nekoliko sindroma kao što su DiGeorge sindrom, velokardiofacijalni sindrom, sindrom konotrunkalne anomalije lica, Opitz/GBBB sindrom, Cayler sindrom, Kenny-Caffey sindrom. Klinička je slika vrlo varijabilna kao i veličina zahvaćenog segmenta. Kod većine bolesnika dokazana je delecija DNA segmenta veličine 3Mb, a u manjem broju ispitanika delecija obuhvaća segment DNA veličine 1.5Mb. Metode molekularne biologije koje se koriste u dijagnostičkom algoritmu mikrodelecijskih sindroma su fluorescentna in situ hibridizacija (FISH), metoda višestrukog umnažanja vezanih proba (MLPA) i komparativna genomska hibridizacija na biočipovima (aCGH). Dijagnoza mikrodelecijskih sindroma u velikom se broju slučajeva može postaviti ciljanim pretraživanjem genoma na poznate promjene metodom FISH na metafaznim kromosomima i interfaznim jezgrama. Metode se najčešće kombiniraju i/ili isključuju pa se u dijagnostičkom algoritmu uz molekularne metode radi i konvencionalna metoda GTG-pruganja. Kombinacijom metoda dobiva se kvantitativni i kvalitativni nalaz te precizno definirana delecija, koja se može povezati s kliničkom slikom djeteta.

Cilj rada bio je pokazati dijagnostički algoritam poznatih mikrodelecijskih sindroma na primjeru DiGeorge sindroma. Poznavajući osjetljivost i specifičnost metoda koje su se kombinirale u dijagnostičkom algoritmu dobio se uvid u stvarne promjene genoma. U ispitivanje je bilo uključeno 187 djece sa sumnjom na DiGeorge sindrom. Kod svih ispitanika rađen je kariogram i FISH. Patološki nalaz nađen je u 20% (37/187) slučajeva. Ciljanim pretraživanjem metodom FISH (pr. 22q11/22q13) otkrivena je mikrodelecija kromosoma 22 kod 14% (26/187) bolesnika, dok je kod 6% (11/187) bolesnika nađena kromosopatija (trisomija kromosoma 18 ili 21). Primjenom navedenih metoda kod 80% (150/187) bolesnika nije nađen uzrok kliničke slike. U otkrivanju mikrodelecijskih sindroma veću primjenjivost u odnosu na metodu FISH ima metoda MLPA zbog svoje bolje informativnosti. Time MLPA postaje prva metoda izbora u otkrivanju mikrodelecijskih sindroma u radu našeg laboratorija.

U slučajevima neotkrivenog uzroka kliničke slike djeteta, kliničar genetičar indicira metodu aCGH, kojom se pretražuje cijeli genom s puno većom rezolucijom, čime je dijagnostički doprinos puno veći.

Zaključak: U dijagnostici promjena genoma kao što su mikrodelecijski sindromi važan je odabir i dostupnost molekularno citogenetskih tehnika.

Ključne riječi: mikrodelecijski sindromi, I-FISH, MLPA, aCGH

THE ROLE OF *BIRC5* POLYMORPHISMS AND SURVIVIN GENE EXPRESSION IN OVARIAN CANCER

M. Gregorić¹, V. Musani², P. Ozretić², M. Sabol², D. Trnski², D. Kalafatić^{3,4}, I. Maurac⁴, S. Orešković^{3,4}, S. Levanat²

¹Zagreb Health School, Zagreb, Croatia; ²Laboratory for Hereditary Cancer, Division of Molecular Medicine, Ruđer Bošković Institute, Zagreb, Croatia; ³University of Zagreb, School of Medicine, Zagreb, Croatia; ⁴ Department of Obstetrics and Gynecology, University Hospital Centre Zagreb, Zagreb, Croatia

Introduction:

Survivin, encoded by *BIRC5* gene, belongs to the family of inhibitors of apoptosis (IAP) proteins. Although its expression is usually confined to G2-phase and mitosis, survivin is often expressed throughout the cell cycle in cancer. In healthy organisms it is not expressed in differentiated tissues, while its expression is markedly increased in tumors. Its abundance in tumors correlates with increased resistance to chemotherapy and radiation, treatments lethal to cells through DNA damage and apoptosis induction. *BIRC5* polymorphisms have been previously associated with increased expression, stability and localization of survivin, that all can affect tumor development.

At least 5 different splice variants of the survivin gene have been reported in humans so far (wild type, 2 α , 2B, 3B and deltaEx3). All survivin protein isoforms arising from the splice variants share the same N-terminus region, including either part or the entire Baculovirus IAP Repeat (BIR) domain, but they differ in the carboxyl end. The transcript expression levels of various survivin isoforms have been significantly associated with clinico-pathologic characteristics in several cancers.

Aim of the study:

In this study we investigated the role of *BIRC5* polymorphisms and survivin gene expression in ovarian cancer.

Methods:

Genetic testing of 40 patients and 74 healthy controls was conducted using high resolution melting analysis and Sanger sequencing.

Results:

Fifteen different polymorphisms were found in ovarian carcinoma samples, 9 common and 6 rare. The distribution of polymorphisms did not differ between healthy controls and ovarian carcinoma samples. For 22 patients that had RNA of sufficient quality, the expression of five splice variants was determined using qPCR. The highest expression of all splice variants was of survivin 2 α , then wild type survivin, followed by survivin deltaEx3 and survivin 3B. The lowest expression was of the splice variant survivin 2B, which was expressed in only 15 of 22 samples analyzed. All splice variants had higher expression in ovarian cancer compared to healthy Fallopian tube tissue.

For three polymorphisms (c.-1547C>T, c.9386T>C and c.10611C>A), homozygous major genotype showed higher expression of wild type, 2 α , 2B and 3B isoforms compared to

heterozygous genotype. Furthermore, major allele of the same polymorphisms showed higher expression of wild type, 2 α and 2B isoforms compared to minor allele.

Conclusion:

This was the first study in Croatia which correlated *BIRC5* polymorphisms with the level of its splice variants expression. Our results have also demonstrated a possible role of *BIRC5* polymorphisms in ovarian cancer etiology, and their potential as prognostic biomarkers.

Keywords : survivin, ovarian cancer, survivin protein isoforms, prognostic biomarkers

UČESTALOST KROMOSOMSKIH PROMJENA KOD PACIJENATA SA NEUROBLASTOMOM

J. Franjčec, I. Franić, Šimić, A. Miličević, T. Pavlović, R. Zrnec, I. Žugčić, I. Mekota, S. Novak

KBC Zagreb, klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku, odjel za citogenetiku

Uvod: Neuroblastom je maligni tumor porijeklom od primitivnih stanica simpatičkog živčanog sustava. Jedan je od češćih solidnih tumora dječje dobi. Karakteriziran je multiplim promjenama genoma: aneuploidija, gubitak, višak i amplifikacija kromosomskog materijala. Klinička heterogenost neuroblastoma je upravo odraz tih abnormalnosti, a neke su kao prognostički faktori dovele do bolje stratifikacije oboljelih za terapiju. Istraživanja molekularne biologije ovog tumora započela su citogenetičkom analizom neuroblastomskih stanica. Rane promjene genoma koje se mogu naći u oboljele djece imaju dijagnostičku, terapijsku ali i prognostičku važnost. MYCN amplifikacija (broj kopija gena veći od 10) snažno je povezana s višim stadijem, bržom progresijom i lošijom prognozom bolesti. U lokaliziranim stadijima neuroblastoma, amplifikacija MYCN je važan prognostički faktor pomoću kojeg se identificiraju pacijenti koji (ne) zahtijevaju agresivnu kemoterapiju. Delecija 1p36 nalazi se često zajedno s MYCN amplifikacijom u visokom stadiju bolesti te je povezana s lošijom prognozom.

Cilj: Liječenje i prognoza bolesti definirana je između ostaloga i promjenama genoma (amplifikacija, aneuploidija, višak ili manjak genetičkog materijala). Primjena molekularnih metoda kao što je metoda interfazne fluorescentne in situ hibridizacije (I-FISH) može ciljanim pretraživanjem tumorskog tkiva tj. parafinskih rezova tumora dokazati promjene. Dokazane promjene imaju dijagnostičku, terapijsku i prognostičku važnost. Promjene genoma koje su bile od kliničke važnosti: amplifikacija 11q23/MLL gena, ekspresija MYCN gena te delecija regije 1p36.

Metode: Dijagnostički algoritam neuroblastoma uključivao je kulturu stanica koštane srži, kariogram stanica koštane srži (metoda GTG pruganja) i metodu interfazne fluorescentne in situ hibridizacije (I-FISH) na parafinskim rezovima tumora.

Rezultati: Od 26 parafinskih uzoraka tumorskog tkiva, metodom I-FISH dokazana je duplikacija/amplifikacija MYCN gena u 5/26 uzoraka (19%), a u 7 uzoraka (27%) dokazane su promjene na kromosomu 1 u kombinaciji sa duplikacijom/amplifikacijom MYCN gena. Svi uzorci koštane srži koji su analizirani metodom GTG-pruganja bili su uredni jer koštana srž nije bila zahvaćena bolešću.

Zaključak: U svih bolesnika s neuroblastomom nađen je normalan kariotip, jer koštana srž nije bila zahvaćena bolešću. Promjene genoma koje su dokazane na parafinskim uzorcima tumora (primarno mjesto tumora) metodom I-FISH imale su dijagnostičku, terapijsku ali i prognostičku vrijednost. Prema dokazanim promjenama genoma bolesnici su pripadali određenoj rizičnoj skupini što je bilo važno za algoritam liječenja.

KLJUČNE RIJEČI: neuroblastom, MYCN

FARMAKOGENETIKA STATINA

M. Mezak Herceg, Z. Mirković, L. Šimičević, L. Ganoci, N. Božina

Klinički bolnički centar Zagreb, Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku medicinskog fakulteta sveučilišta u Zagrebu, Klinički odjel za farmakogenomiku i individualizaciju terapije, Zagreb, Hrvatska

Statini su danas jedni od najpropisivanijih lijekova u razvijenim zemljama zbog velike učestalosti hiperkolesterolemije te posljedično i velike učestalosti kardiovaskularnih bolesti. Ovi lijekovi sprječavaju djelovanje enzima 3-hidroksi-3-metilglutaril koenzim A-reduktaze (HMG-CoA-reduktaze) u jetri na supstrat 3-hidroksi-3-metilglutaril koenzim-A (HMG-CoA) te tako izostaje ključna pretvorba HMG-CoA u mevalonat tj. izostaje sinteza kolesterola u jetri. Pojava nuspojava na primjenu statina je niže učestalosti nego na druge hipolipemike, što je bitno zbog njihove dugogodišnje primjene. Najčešće nuspojave su miopatije i poremećaji jetrene funkcije. Miopatije mogu biti različitog intenziteta od blage slabosti i boli mišića bez povećanja kreatin-kinaze (CK) do po život opasne rhabdmiolize (oštećenje i razaranje mišića praćeno s povećanjem CK za više od 10 puta).

S novim saznanjima farmakogenomičkih istraživanja otkrivena je povezanost genetičkih čimbenika i pojave nuspojava na statine. Istraživanja su pokazala da varijabilnost gena koji kodiraju metaboličke enzime citokroma P450 kao i prijenosne proteine OAT i ABC uvjetuje farmakokinetiku statina i tako znatno doprinosi povećanoj riziku od razvoja nuspojava i pojave međudjelovanja pri istovremenoj primjeni drugih lijekova.

Prisutnost polimorfizama u genima koji kodiraju membranski prijenosnik OATP1B1 dovode do usporenog unosa statina u jetru te povećane koncentracije statina u cirkulaciji što može rezultirati pojavom miopatije. Polimorfizmi gena prijenosnika ABCB1 i ABCG2 mogu usporiti prijenos statina u stanicama crijeva te na brani jetra/žuč te mogu uzrokovati poremećaj jetrene funkcije. Statini se metaboliziraju putem enzima CYP2C9, CYP2C19 i CYP3A4, te svaki pozitivan nalaz polimorfizma utječe na brzinu enzima i posljedično ima direktnu posljedicu u vidu mogućih pojava nuspojava statina.

U Odjelu za farmakogenetiku i individualizaciju terapije (KZLD, KBC Zagreb) se za individualizaciju terapije statinima provodi genotipizacija metaboličkih enzima CYP2C9 alela *2 i *3, CYP2C19 alela *2 i *17, CYP3A4 alela *22, te prijenosnika SLCO1B1 521C>T i ABCG2 421C>A.

Genotipizacija se radi iz uzorka DNA koja je izolirana iz uzorka pune krvi izvađene na antikoagulant EDTA. Za pojedine analize primjenjuju se metode molekularne dijagnostike kao što su PCR (lančana reakcija polimeraze), PCR-RFLP te PCR u stvarnom vremenu.

Ključne riječi: statini, nuspojave, farmakogenetika

ATIPIČNE GLANDULARNE STANICE U PAPA-RAZMAZU

A-M. Popović

Zavod za javno zdravstvo Ličko-senjske županije

Uvod: Nalaz atipičnih/abnormalnih glandularnih stanica u Papa-razmazu je rijetka, ali je značajna citološka dijagnoza. Ova kategorija predstavlja "graničnu" citologiju glandularnih lezija. U citološkoj abnormalnosti lezija cilindričnog epitela u Papa-razmazu postoji čitav niz diferencijalno dijagnostičkih poteškoća zbog preklapanja citoloških kriterija benignih i neoplastičnih lezija.

Glavni cilj je otkrivanje premalignih promjena cerviksa, koje ako se ne liječe mogu prerasti u karcinom. Otkrivanjem i liječenjem, u pravilu asimptomatskih premalignih promjena, sprječava se nastanak invazivnog karcinoma.

Cilj studije: Prikazati udio pojedinih AGC (atipične glandularne stanice) podskupina u konvencionalnom VCE(vaginalni, cervikalni, endocervikalni razmaz) razmazu te usporedbom s patohistološkim nalazom odrediti dijagnostičku vrijednost citologije abnormalnih glandularnih stanica.

Metode: Istraživanje je ustrojeno kao retrospektivno presječno, a kao baza podataka korištena je evidencija citoloških i patohistoloških nalaza Kliničkog zavoda za kliničku citologiju KBC Osijek. Kriterij za uključivanje u istraživanje su ispitanice s nalazom abnormalnih glandularnih stanica u Papa-razmazu u periodu od 1. siječnja 2011. do 31. prosinca 2015. godine i patohistološkim nalazom biopsije/konizata cerviksa Kliničkog zavoda za patologiju i sudsku medicinu KBC Osijek. U istraživanje je bilo uključeno 76 ispitanica.

Rezultati: Udio AGC promjena u istraživanju iznosi 0,3 %. U AGC kategoriji najčešća je podskupina vjerojatno reaktivne promjene s 81,2 % nalaza. U podskupini vjerojatno reaktivne promjene dominantan je nalaz benigne bolesti (66,7 %). U podskupini vjerojatno intraepitelne promjene benignan nalaz imalo je 27,8 % ispitanica, a nalaz premalignih, intraepitelnih promjena (najčešće skvamoznog epitela) 66,7 % ispitanica. U podskupini vjerojatno invazivne promjene 96,0 % ispitanica imalo je nalaz maligne bolesti, najčešće endometriju. Osjetljivost citološkog nalaza atipičnih glandularnih stanica iznosi 77,1 %, specifičnost 78,6 %, pozitivna prediktivna vrijednost 86 %, a negativna prediktivna vrijednost 66,7 %. Vjerojatnost klinički značajnih promjena veća je ako se nalaze u skupinama intraepitelnih i invazivnih promjena.

Zaključak: Atipične glandularne stanice predstavljaju graničnu citologiju glandularnih lezija i povezane su sa širokim rasponom benignih (reaktivno/reparatornih), premalignih i malignih lezija. U skupini AGC promjena u patohistološkoj dijagnozi za reaktivne promjene najčešća dijagnoza je bio benignan nalaz, za intraepitelne promjene CIN 2/3, a za invazivne promjene najčešća dijagnoza bio je adenokarcinom endometrija.

Ključne riječi: atipične glandularne stanice, ginekološka citologija, Papa razmaz

ULOGA BIOMARKERA p16/Ki 67 U DIJAGNOSTICI CITOLOŠKIH ABNORMALNOSTI U OBRISCIMA CERVIKSA

Lj. Gavranović¹, V. Švencbir Popovski¹, I. Krivak Bolanča¹

¹ KB "Mercur", Zavod za kliničku citologiju i citogenetiku, Zagreb

Uvod: Implementacija PAPA test-a u redoviti ginekološki pregled je dovela do značajnog pada smrtnosti od karcinoma vrata maternice. No, unatoč visokoj specifičnosti PAPA testa, osjetljivost testa je vrlo varijabilna i razlikuje se među laboratorijima, pa čak i između liječnika istog laboratorija. Razvoj novijih metoda u dijagnostici, kao što su genotipizacijsko detektiranje humanog papiloma virusa i određivanje tumorskih biljega na citološkim uzorcima, dovelo je do značajnog poboljšanja osjetljivosti citologije u otkrivanju lezija visokog stupnja. U ovom radu korišteni su sljedeći tumorski biljezi: p16 koji se smatra biljekom transformirajuće infekcije, što je preduvjet nastanka teške displazije i/ili karcinoma; te Ki 67 - proliferacijski indeks koji je važan prognostički parametar za kliničko ponašanje lezije. Određivanjem genotipova virusa dobiva se informacija o postojanju infekcije s određenim rizičnim tipovima koji imaju izraženi onkogeni potencijal.

Cilj rada: Procjeniti učestalost dvojnog bojenja na obriscima vrata maternice kod HPV pozitivnih pacijentica.

Materijali i metode: U istraživanje su uključene 133 pacijentice kod kojih su uzeti uzorci obrisaka cerviksa za citološku analizu i istovremeno uzorak za HPV tipizaciju. Citološki nalaz je klasificiran po modifikaciji Zagreb 2016. Bethesda klasifikacije u skupinu urednog nalaza, ASCUS-a, LSIL i HSIL nalaza. Nakon citološke analize, cervikalni su uzorci potom obojeni imunocitokemijskom metodom s p16 i Ki 67 protutijelima u CINTec setu (Roche MTM Laboratories AG). Za detekciju HPV-a i određivanje visoko onkogenih tipova (tipovi 16, 18 i skupina ostalih onkogenih tipova) korišten je COBAS HPV test (Roche Molecular Diagnostic Test, Roche) u suradnoj ustanovi.

Rezultati: Infekcija s nekim od visoko onkogenih tipova HPV-a je potvrđena kod 83,6 % (111/133) pacijentica od kojih je 59,4 % (66/111) bilo pozitivno na dvojno bojenje. Rezultati dvojnog bojenja su pokazali da niti jedna pacijentica s negativnim citološkim nalazom nije imala pozitivnu reakciju bojenja (0/2) dok je pozitivitet reakcije rastao kod pacijentica sa ASC-US- om od 20 % (2/12) ; 48 % (46/95) kod LSIL promjena do 83 % (20/24) kod pacijentica sa HSIL promjenama.

Zaključak: Dokazana je povezanost dvojnog bojenja i prisustva visoko onkogenih tipova HPV-a te istovremeno i povezanost pozitiviteta reakcije bojenja s težinom nađene displazije u citološkim nalazima. To upućuje na mogućnost da bi se dvojno bojenje p16/ Ki67 biomarkera moglo koristiti kao marker za dokaz prisustva HPV infekcije i istovremeno kao marker za postojanje displazije epitela.

Ključne riječi: PAPA test, abnormalnosti epitela, HPV, imunobojenje

PATOHISTOLOŠKA OBRADA TRANSPLANTIRANOG BUBREGA

M. Abramović¹, A. Tarle¹, D. Pavlović¹,

¹Klinički zavod za patologiju i citologiju, Klinički bolnički centar Zagreb, Zagreb, Hrvatska

UVOD: Transplantacija bubrega je najčešći oblik transplantacije solidnog organa. Glavna indikacija je terminalni stadij zatajenja bubrega. Zaklada Eurotransplant je organizacija koja povezuje osam zemalja, među njima i Hrvatsku, te omogućuje najbolji mogući način da se poveže donorski organ sa primateljem. 2017. g. pod njihovom nadležnošću učinjeno je 6 636 transplantacija bubrega na europskoj razini a u Hrvatskoj 311 transplantacija. Važnu ulogu u praćenju transplantiranog bubrega ima patohistološka obrada bubrega.

CILJ: Cilj ovog preglednog rada je prikazati naše iskustvo i ukazati na važnost patohistološke obrade bubrega prije i nakon transplantacije.

METODE: Standardni protokol kod transplantacije uključuje hemolaun/eozin bojanje i imunoflorescencijsko bojanje smrznutih rezova te imunohistokemijsko bojanje na parafinskim rezovima.

REZULTATI: Hemolaun/eozin bojanje na smrznutim rezovima kod donora ukazuje nam je li bubreg odgovarajući za transplantaciju a imunoflorescencija i imunohistokemija kod „core“ biopsija nakon transplantacije nam ukazuje je li došlo do odbacivanja bubrega.

ZAKLJUČAK: Patohistološka obrada transplantiranog bubrega predstavlja važan izvor informacija i ključni je pokazatelj kliničarima.

KLJUČNE RIJEČI: patohistologija, transplantacija, bubreg

EXPRESSION OF FORSSMAN AND CANCER

C. Mourato¹, D. Martins¹, P. Teixeira¹, F. Mendes^{1,2,3}

¹Department Biomedical Laboratory Sciences, ESTESC- Coimbra Health School, Polytechnic Institute of Coimbra, Coimbra, Portugal; ² Institute for Clinical and Biomedical Research (iCBR) area of Environment Genetics and Oncobiology (CIMAGO), Faculty of Medicine, University of Coimbra, Portugal; ³ CNC.IBILI, University of Coimbra, Portugal.

Introduction: Immunohistochemistry (IHC) assays are an important diagnostic tool in the pathology diagnosis, capable not only of providing a predictive and prognostic response, but also to stratify patients who are more likely to be respond to personalized therapy.

Technical validation of these tests has been discussed recently, in the context of HER2 in breast cancer and PD-L1 in non-small cell lung cancer.

The American Society of Clinical Oncology (ASCO)/College of American Pathologists (CAP) recommends analytical validation of this assay, and the NordiQC quality External control center suggests the use of human surplus tissues as a way to optimize implementation of tests and monitoring their detection threshold over time.

The Forssman (Fs) antigen (Ag) was first described in 1911, and its expression on RBCs varies among species, being rarely present on human blood cells. In tissues, the expression of Forssman (Fs) antigen (Ag) has been described in lung, stomach and colon cancers and in normal human tissues such as pancreas, kidney and placenta.

Aim: The purpose of this work was to implement a protocol to validate the detection of the Fs Ag in gastric and colon carcinoma, by immunohistochemistry.

Methods: Eight human tissues without known pathology were selected from liver, pancreas, placenta, colon, lung, prostate, kidney and appendix; two samples from gastric and colon cancer were also used to perform a multi-tissue paraffin block control. The negative control was done by replacing the primary antibody (Ab) by PBS. IHC assay was performed with 4 µm thickness cuts with concentrations above and below the reference concentration of the datasheet. Different buffer solutions for high temperature heat-induced epitope retrieval (HIER) were tested.

Fs Ag was detected with anti-human Ab clone EPR 10467 (Abcam, #AB154837) and an indirect biotin-free system in a Benchmark Ultra Stainer (Ventana Medical Systems, USA).

Results: All the tissues stained, including the negative controls, suggesting an unspecific staining with all the alternative antigen retrieval solutions and antibody concentrations tested.

Discussion and Conclusion: Validation methods provide information between problems from samples, analytic methods or antibodies. Testing different antigen retrieval solutions, different temperatures and incubation times, we realize that the Fs Ab may have a different behavior than described in the datasheet and it will be necessary to optimize the protocol in order to include it in diagnostic. Our study also reveals the value of validation in clinical practice, becoming an important tool in diagnostic and therapeutic management.

Keywords: Forssman antigen; anti-Fs; immunochemistry; cancer

TO BE IgM+IgG OR NOT TO BE IgG – ANTIBODIES ANTI FORSSMAN

C. Mourato¹, A. Corpuz², D. Martins¹, P. Teixeira¹ and F. Mendes^{1,3,4}

¹Department Biomedical Laboratory Sciences, ESTESC- Coimbra Health School, Polytechnic Institute of Coimbra, Coimbra, Portugal; ²School of Biological Sciences, Dublin Institute of Technology, Kevin St, Dublin 8, Ireland; ³Institute for Clinical and Biomedical Research (iCBR) area of Environment Genetics and Oncobiology (CIMAGO), Faculty of Medicine, University of Coimbra, Portugal; ⁴CNC.IBILI, University of Coimbra, Portugal.

Forssman (Fs) antigen (Ag) expression on sheep red blood cells (RBCs) was first described by John Frederick Forssman in 1911. The expression of Fs Ag on RBCs varies among species being classified as positive (e.g. sheep) or negative (e.g. primates). Fs Ag is rarely present on human RBCs, there are only three families reported to carry the polymorphism in the *GBGT1* gene that activates the Fs synthetase and induces the expression of Fs Ag.

Anti-Fs antibodies (Ab) are naturally occurring in human sera and its prevalence is high. This Ab can be IgM or IgG which means that it may have significant implications in transfusion medicine with its ability to activate complement and induce intravascular haemolysis of RBCs with Fs Ag expression or cross the placental barrier and cause perinatal hemolytic disease.

This study was designed to classify the type of antibody present. Thus, a total of 188 in 2000 plasma samples from a Portuguese donor population were studied using 2-mercaptoethanol after being screened for the presence of the Ab anti-Fs. Both of this screenings were made using a 3-5% sheep RBC suspension with Fs Ag expression and by tube technique.

To evaluate the class of the Ab, we used samples from different ABO and Rh groups in a total of 188 samples: 50 samples from group A (25 positive and 25 negative), 50 samples from group B (25 positive and 25 negative), 50 samples from group 0 (25 positive and 25 negative) and 38 samples from group AB (25 positive and 13 negative).

Regarding the ABO system, for blood group A, 31 (62%) samples were IgM, 1(2%) was IgG and 18 (36%) were IgG + IgM; for blood group B, 12 (24%) samples were IgM, 1 (2%) was IgG and 37 (74%) were IgG + IgM; for blood group 0, 31 (62%) samples were IgM, 1 (2%) was IgG and 18 (36%) were IgG + IgM and for the blood group AB, 24 (63,2%) samples were IgM, 3 (7,9%) were IgG and 11 (28,9%) were IgG + IgM. Concerning the Rh system, in a total of 100 positive samples, 54 (54%) were IgM, 4 (4%) were IgG and 42 (42%) were IgG+IgM; from 88 negative samples 44 (50%) were IgM, 2 (2,3%) were IgG and 42 (47,7%) were IgG + IgM.

This way we can conclude that anti-Fs is mostly IgM or IgG+IgM and rarely IgG.

Keywords: Forssman antigen; red blood cells; anti-Fs; transfusion medicine; 2-mercaptoethanol

TELEFONSKA KOMUNIKACIJA NA CENTRALNOM PRIJEMU II HRVATSKOG ZAVODA ZA TRANSFUZIJSKU MEDICINU

M. Čehulić¹, Ž. Kita¹, V. Matuš¹

¹Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu, Laboratorijska dijagnostika i klinička transfuzija, Zagreb, Hrvatska)

Uvod: Na Centralnom prijemu II (CP II) Hrvatskog zavoda za transfuzijsku medicinu (HZTM) upisuju se podaci za serološku, molekularnu, eritrocitnu, leukocitnu i trombocitnu dijagnostiku, hemostazu, te mikrobiološka ispitivanja. Upisu podataka prethodi provjera uputnica poslanih s primarnim uzorkom, radi točne identifikacije pacijenta, traženih pretraga i stupnja hitnosti. Pravovremeno uočavanje nedostataka ili pogrešaka osnova je za smanjenje rizika u predanalitičkoj fazi, a omogućuje pravovremeno izdavanje nalaza. To je prepoznato i u normama sustava kontrole kvalitete HZTM (ISO 9001:2012, HRN EN ISO 15189:2012).

Cilj: Utvrditi sadržaj telefonskih komunikacija CP II HZTM s naručiteljima usluga.

Metode: U ovom radu su korišteni zapisi telefonskih komunikacija na CP II HZTM u periodu od 18.03.2017. – 18.03.2018.

Rezultati: Zabilježene su 293 telefonske komunikacije. Zbog manjka administrativnih podataka na uputnici bilo je 180 (61,4%) poziva. Nedostajali su slijedeći podaci: MBO/OIB, datum i/ili godina rođenja, broj zahtjevanih doza krvnih pripravaka, potpis odgovorne osobe; ime/prezime i/ili potpis osobe koja je vadila uzorak i vrijeme vađenja uzorka, odjel, vrsta pretrage, tip uputnice, obrazac o razrijeđenju uzorka (donori), uputnica (uzorak bez uputnice), pretraga koju naručitelj nije napisao na uputnici, a traži da se napravi iz istog uzorka. Zabilježeno je 40 (13,6%) poziva radi uzorka, a razlozi su bili: nedovoljna količina, krivi spremnik, nije poslan spremnik (uputnica bez uzorka). Ostale konzultacije, njih 73 (25%), odnosile su se na prijepis nalaza, preusmjeravanje nalaza u drugu ustanovu radi premještaja pacijenta, stornirane pretrage i promjenu stupnja hitnosti.

Zaključak: Analizom podataka CP II HZTM uočeno je najviše konzultacija s naručiteljima zbog administrativnih podataka. Iako HZTM svim naručiteljima usluga uz ugovor obavezno šalje Napatuk za ispunjavanje Uputnica za laboratorijsko ispitivanje, uzimanje, označavanje i rukovanje s uzorcima krvi, i dalje postoji potreba za kontinuiranim obavještavanjem i izobrazbom korisnika usluga HZTM. Iz rezultata je vidljivo da izobrazba treba obuhvatiti svo stručno osoblje koje sudjeluje u predanalitičkoj fazi ispitivanja bez obzira na stručnu spremu.

Ključne riječi: predanalitička faza, laboratorijsko ispitivanje, komunikacija

PATIENT BLOOD MANAGEMENT

M. Glegj¹, D. Drenjančević^{1,2}, M. Samardžija^{1,2}

¹KBC Osijek, Klinički zavod za transfuzijsku medicinu, Odjel imunohematološke dijagnostike bolesnika, Osijek, Hrvatska; ²Medicinski fakultet Osijek, Sveučilište J. J. Strossmayera u Osijeku, Osijek, Hrvatska

Uvod: Patient Blood Management (PBM) je koncept očuvanja vlastite bolesnikove krvi prije, za vrijeme i nakon medicinskih postupaka, usmjeren na izbjegavanje nepotrebnog transfundiranja krvnih pripravaka i koordiniranu ekonomski učinkovitu strategiju u cjelokupnoj zdravstvenoj skrbi, koja pridonosi dužini i kvaliteti života bolesnika.

Ciljevi: Objasniti utjecaj PBM koncepta na uštede u zdravstvu, istražiti uzroke ponavljanja pretraga koji uzrokuju jatrogenu anemiju i koliko je krvnih pripravaka proglašeno nesukladnima zbog isteklog roka trajanja u ukupnoj proizvodnji Regionalnog transfuzijskog centra Osijek u 2014. godini.

Nacrt studije: Ova retrospektivna studija sadrži podatke o proizvedenim krvnim pripravcima, zahtjevima za krvne pripravke, uzorcima i analitičkim testiranjima, prikupljene u tijeku 2014. u RTC Osijek. Kategoričke varijable opisane su apsolutnim i relativnim frekvencijama. Nominalni pokazatelji prikazani su raspodjelom učestalosti po skupinama i udjelom. Razlike među kategoričkim varijablama testirane su Fisherovim egzaktnim testom. Sve P vrijednosti su dvostrane, uz razinu značajnosti od $\alpha = 0,05$. Primijenjeni su izvorno pisani programi za baze podataka i statistički paket Statistica for Windows 2005 (inačica 7.1, StatSoft Inc., Tulsa, OK, SAD).

Rezultati: Razlozi ponavljanih testiranja su hemoliza, otkazana transfuzija i ostali razlozi. U 2014. proizvedena su ukupno 67.234 krvna pripravka. Zbog isteklog roka trajanja od 25.955 eritrocitnih krvnih pripravaka otpisano je 300, a od 3522 koncentrata trombocita otpisana je 921 doza. Proizvedena je 17.731 svježe smrznuta plazma, a 6 je otpisano zbog isteklog roka trajanja.

Zaključak: Odgovornost za osiguranje dovoljne količine sigurne krvi i krvnih pripravaka nužna je u svim segmentima skrbi za bolesnike. PBM nudi razuman pristup liječenju: uštedu zaliha krvi, očuvanje krvi bolesnika, bolje upravljanje krvnim pripravcima, izbjegavanje nepotrebnih transfuzija i osiguranje dovoljnog broja dostupnih krvnih pripravaka kad nema alternative transfuzijskom liječenju.

Ključne riječi: PBM, anemija, krv, krvni pripravak, transfuzija

MOGUĆOST USPOREĐIVANJA LABORATORIJSKIH REZULTATA U PRAĆENJU KONCENTRACIJE PROLAKTINA U SERUMU PACIJENATA

Ivana Gašpar¹, Daniela Šupe Domic²

¹Student; Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku; Medicinski fakultet Osijek: Diplomski sveučilišni studij medicinsko laboratorijska dijagnostika; ²Mentor; Zavod za medicinsko laboratorijsku dijagnostiku, KBC Split, Split

Uvod: U zdravih se ljudi prolaktin pojavljuje u formama različitih molarnih masa: prolaktin, veliki prolaktin i makroprolaktin. Makroprolaktin je biološki inaktivan vezanjem za autoantiprolaktinska antitijela te često interferira u rutinskoj laboratorijskoj obradi dajući lažno povišene rezultate. Zlatni standard u kvantifikaciji prolaktina jest gel filtracijska kromatografija koja se u studijama pokazala kao metoda u kojoj makroprolaktin ne predstavlja interferenciju. U rutini se, unatoč tome, koriste brojne druge metode koje su vremenski i financijski isplativije kao što su imunoradiometrijska metoda (IRMA) i elektrokemiluminiscencijska imunokemijska metoda (ECLIA).

Cilj: Ovim radom cilj je bio statistički ispitati postoji li mogućnost uspoređivanja rezultata dvije različite laboratorijske metode.

Materijali i metode: Ispitivan je uzorak od 40 slučajnih uzoraka pacijenata upućenih u laboratorij u sklopu dijagnostičke obrade. Uspoređivane su dvije različite imunokemijske metode: imunoradiometrijska metoda (IRMA) i elektrokemiluminiscencijska imunokemijska metoda (ECLIA).

Rezultati: Dobiven je visok koeficijent korelacije ($r = 0,916$) uz interval pouzdanosti (95% CI) od 0,845 do 0,955 (razina signifikantnosti $P < 0,0001$). Podaci dobiveni korištenjem Passing-Bablockove regresijske analize pokazali su da ne postoji konstantno odstupanje između metoda ali da postoji malo proporcionalno odstupanje. Po izračunu Cusumovog testa nema značajnog odstupanja od linearnosti ($P = 1,00$). Podaci dobiveni korištenjem Demingove regresijske analize pokazali su da ne postoji niti konstantno niti proporcionalno odstupanje između metoda.

Zaključak: Statistička obrada pokazala je kako usporedivost rezultata metoda u rutini nije zadovoljavajuća jer postoje proporcionalne razlike koje nije moguće zanemariti iako je pokazano i kako postoji visoka korelacija i ne postoji konstantna pogreška. Razlike koje se pojavljuju u kvantifikaciji rezultata posljedica su potpuno različite metodologije izvođenja metoda. Kod longitudinalnog praćenja koncentracije prolaktina važno je koristiti istu metodu na istom analizatoru kako bi bilo moguće uspoređivati rezultate te se koristiti primjerenim referentnim intervalom za tu metodu. Kako bi se omogućilo praćenje pacijenta neovisno u kojem se laboratoriju izvodi pretraga, važno je provesti standardizaciju laboratorijskih rezultata.

Ključne riječi: prolaktin, IRMA, ECLIA, usporedba, standardizacija

POGREŠKE U IMUNOHEMATOLOŠKOJ DIJAGNOSTICI DOBROVOLJNIH DARIVATELJA KRVI (DDK)

M. Zec¹, S. Dajak¹, A. Barać²

¹Mentor; Klinički bolnički centar Split, Zavod za transfuzijsku medicinu, Split, Hrvatska;

²Student; Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku; Medicinski fakultet Osijek: Diplomski sveučilišni studij medicinsko laboratorijska dijagnostika

Uvod: Pogreškama nazivamo svaki korak u standardnom imunohematološkom ispitivanju koji nije izvršen po unaprijed određenom standardnom operativnom protokolu (SOP). Laboratorijske greške mogu se podijeliti na administrativne, te na greške s obzirom na fazu procesa rada u kojoj nastaju: predanalitičke, analitičke i postanalitičke greške.

Cilj studije: Cilj ovog rada bio je odrediti ukupan broj grešaka tijekom imunohematološkog testiranja DDK u razdoblju 2013.-2016. te ih podijeliti na administrativne, greške prema fazi procesa rada u kojima su nastale te na greške s posljedicama i greške bez posljedica.

Metode: Provedena je analiza obrazaca za prijavu neželjenih događaja zaprimljenih tijekom razdoblja 2013. do 2016. godine te su za daljnju analizu izdvojeni samo oni koji se odnose na greške u imunohematološkom ispitivanju krvi DDK. Greške su podijeljene u tri velike skupine: administrativne, predanalitičke i analitičke greške. Naknadno, greške su podijeljene na one s posljedicama i bez njih.

Rezultati: U promatranom razdoblju od 2013.-2016., pronađeno je ukupno 37 grešaka. U predanalitičkoj fazi bilo je 6 grešaka. Zamjene uzorka, te nepodudarnost upisane krvne grupe na kartonu i rezultata testiranja činile su 3 greške te jedan izgubljen uzorak u 2015. Nađena je 21 analitička greška u fazi imunohematološke dijagnostike, od kojih se 13 odnosilo na nesukladan test, a 8 na greške aparata. Bilo je 10 administrativnih grešaka u razdoblju 2013.-2016., a sve su se odnosile na pogrešan upis eritrocitnih antigena u informatički sustav iz kartona DDK. Izdvojene su 3 greške s posljedicama i to pogreška iz 2014. kada su zbog naknadnog dokazivanja pozitivnog IAT-a uništeni svi krvni pripravci tog DDK te 2 slučaja kada kod Rh D(-) DDK nije određen „slabi“ D. 34 pogreške nisu imale posljedica. Radilo se o krivo upisanim eritrocitnim antigenima DDK, greškama aparata koje su rezultirale uništenjem testnih reagensa te nesukladnost izvođenja testova koje su otkrivene i prijavljene. Nije bila niti jedna postanalitička greška.

Zaključak: Usporedbom rezultata ovog istraživanja i istraživanja grešaka u transfuzijskoj medicini u svijetu, može se zaključiti kako je transfuzijsko liječenje u KBC-u Split zadovoljava temeljno načelo u transfuzijskoj medicini: *pravi krvni pripravak, u pravo vrijeme i u pravoj dozi*. Sve greške su otkrivene i prijavljene na vrijeme. Greške se analiziraju te se na osnovi toga provode korektivne i preventivne mjere.

Ključne riječi: pogreške, imunohematološko testiranje, dobrovoljni darivatelji krvi

USPOREDBA METODA ANALIZE KRIVULJE TALJENJA VISOKE REZOLUCIJE (HRM) I KRIVULJE TALJENJA POMOĆU FRET HIBRIDIZACIJSKIH PROBA ZA DETEKCIJU INSERCIJE TA U PROMOTORU GENA *UGT1A1*

M. Jirouš¹, Lj. Glavaš-Obrovac¹, S. Marczy^{1,2}

¹ Medicinski fakultet Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Osijek, Hrvatska;

² KBC Osijek, Laboratorij za molekularnu i HLA dijagnostiku, Odjel laboratorijske dijagnostike i kliničke transfuzijske medicine, Klinički zavod za transfuzijsku medicinu, Osijek, Hrvatska

Uvod: Gen *UGT1A1* kodira sintezu enzima bilirubin-UGT koji sudjeluje u glukuronidaciji bilirubina te metabolizmu nekih lijekova. Divlji tip alela ima 6 TA ponavljanja u promotorskoj regiji gena. Najčešća polimorfna varijanta sa 7 TA ponavljanja uzrok je Gilbertovog sindroma. Real-time PCR metodama kao što su analiza krivulje taljenja visoke rezolucije (HRM) te analiza krivulje taljenja pomoću FRET hibridizacijskih proba moguća je genotipizacija *UGT1A1(TA)_n* polimorfizma. U postupku dijagnostike važno je imati pouzdanu, specifičnu, reproducibilnu i robusnu metodu, kojom se do rezultata dolazi u što kraćem vremenskom roku, uz što niže financijske troškove. U Laboratoriju za molekularnu dijagnostiku i HLA tipizaciju KBC-a Osijek u rutinskoj dijagnostici za genotipizaciju polimorfizma *UGT1A1(TA)_n* primjenjuje se metoda analize krivulje taljenja pomoću FRET hibridizacijskih proba. HRM metoda relativno je nova metoda, čije su karakteristike jednostavnost, visoka specifičnost, brzina i niski troškovi. S obzirom na navedene karakteristike, HRM metodu potrebno je testirati i verificirati u odnosu na već korištenu FRET metodu.

Cilj istraživanja: Ispitati i usporediti specifičnost, pouzdanost, efikasnost, reproducibilnost, robusnost, financijske troškove te vremenski utrošak za metode analize krivulje taljenja pomoću FRET hibridizacijskih proba te analize krivulje taljenja visoke rezolucije (HRM) za detekciju insercije TA u promotoru gena *UGT1A1*.

Ispitanici i metode: Za testiranje i usporedbu metoda korišteni su DNA uzorci poznatog genotipa - po tri uzorka od svakog genotipa (TA6/6, TA6/7 i TA7/7) te po jedan referentan uzorak za svaki genotip. Genotipizacija uzoraka učinjena je FRET i HRM metodama.

Rezultati: Robusnost HRM i FRET metoda testirana je titracijama koncentracije MgCl₂ te je utvrđeno da FRET metoda tolerira veći raspon koncentracija pri amplifikaciji, no jedino je 3,0 mM koncentracija bila optimalna za analizu rezultata genotipizacije kod obje metode. Usporedbom vrijednosti T_m za FRET metodu te C_p vrijednosti za HRM metodu utvrđen je mali ukupni raspon što je pokazalo da su metode pouzdane i reproducibilne. Usporedbom financijskih troškova utvrđeno je da je FRET metoda 2,5 puta skuplja, dok je usporedbom

vremena potrebnog za izvedbu metoda utvrđeno da HRM metoda zbog analize rezultata traje malo duže.

Zaključak: Testiranjem i usporedbom karakteristika FRET i HRM metoda dokazano je da su obje metode pouzdane, specifične i efikasne za genotipizaciju UGT1A1(TA)_n polimorfizma. Utvrđeno je da je metoda HRM analize 2,5 puta jeftinija od analize krivulje taljenja pomoću FRET hibridizacijskih proba, dok je za analizu rezultata kod HRM metode potrebno utrošiti malo više vremena. Nadalje, utvrđeno je da je HRM metoda prikladnija za detekciju heterozigotnog TA 6/7 genotipa.

KLJUČNE RIJEČI: analiza krivulja taljenja, FRET hibridizacijske probe, gen UGT1A1, HRM

UČINCI BENZIMIDAZOLA NA STANIČNI CIKLUS TUMORSKIH STANICA

Marija Knežević¹, Ljubica Glavaš-Obrovac¹

Student ¹Medicinski fakultet Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Uvod: Benzimidazoli su aromatski heterociklički organski spojevi koji u svojoj strukturi sadrže benzimidazolsku jezgru, koja čini osnovnu komponentu farmakološki značajnih molekula. Aktivni su dio mnogobrojnih sintetskih biokemijskih i medicinskih supstanci što pridonosi različitim biološkim, farmakološkim i kemijskim aktivnostima. Utvrđeno je njihovo protutumorsko, antiviralno i antibakterijsko djelovanje. Neke su studije pokazale da benzimidazoli upravo zbog svoje strukture imaju visoki stupanj vezanja za dvolančanu molekulu DNK, a time imaju važnu ulogu u razvoju protutumorskih lijekova. Učinak spojeva benzimidazola na stanični ciklus moguće je pratiti metodom protočne citometrije mjerenjem sadržaja jezgrine DNK, primjenom specifičnih fluorescentnih boja koje se izravno vežu za DNK nakon tretiranja stanica derivatima benzimidazola.

Cilj: Cilj istraživanja bio je ispitati utjecaj derivata benzimidazola na stanični ciklus tumorskih stanica, odrediti promjene u staničnom ciklusu i definirati supstancu koja ima najveću učinkovitost na rast tumorskih stanica.

Materijali i metode: Za potrebe istraživanja, derivati su pripremljeni u Zavodu za kemiju i biokemiju Veterinarskog fakulteta u Zagrebu. Uzgoj kulture stanica *in vitro* podrazumijeva rad sa staničnim kulturama u kabinetu za rad u sterilnim uvjetima, uzgajanje u bocama za kulturu stanica u CO₂ inkubatoru u kontroliranim uvjetima pri temperaturi 37°C uz 5% CO₂. Stanične linije u suspenziji Raji i MOLT održavaju se oduzimanjem ili razrjeđivanjem dijela volumena i dodavanjem svježeg RPMI medija. Nakon tretiranja stanica derivatima benzimidazola, stanice su fiksirane alkoholom i obilježene propidij jodidom, fluorescentnom bojom koja ima sposobnost ugrađivanja u DNK. Promjene staničnog ciklusa stanica analizirane su protočnim citometrom.

Rezultati: Uočen je antiproliferativni učinak svih testiranih derivata na stanične linije, osim derivata MB-167 koji ne djeluje na testirane stanične linije ni u jednoj fazi staničnog ciklusa. Najjači antiproliferativan učinak na stanični ciklus imao je derivat MB-164. S obzirom na osjetljivost stanica na učinke derivata benzimidazola, osjetljivijom staničnom linijom se pokazao stanični rast MOLT linije.

Zaključak: Derivati benzimidazola pokazuju antiproliferativni učinak na stanični ciklus tumorskih stanica i inhibiraju njihov rast ovisno o strukturi spoja i tipu stanica.

Glavne riječi: benzimidazoli, stanični ciklus, antiproliferativni učinak, kultura stanica

UTVRĐIVANJE MOGUĆEG MUTAGENOG UČINKA MONOMETINSKIH CIJANINSKIH DERIVATA

P. Medač¹, K. Mišković - Špoljarić¹

¹Sveučilište J.J.Strossmayera u Osijeku, Medicinski fakultet Osijek, Osijek, Hrvatska, student

Uvod: Monometinski cijaninski derivati (eng. monomethine cyanine dyes – MCD) spojevi su male molekulske mase koji pripadaju skupini cijaninskih boja. Cijaninske boje jedne su od najstarijih sintetičkih boja sa širokom mogućnošću primjene u različitim područjima znanosti, tehnologije, farmakologije i medicine. U molekularnoj analitici, cijaninske boje koriste se za analizu nukleinskih kiselina u obliku molekularnih proba. Od devedesetih godina dvadesetog stoljeća sintetiziran je velik broj novih cijaninskih boja s ciljem pronalaska novih, stabilnih interkalirajućih boja koje bi zamijenila do sada korištene, genotoksične fluorescentne boje. Osim vizualizacijske funkcije, istražuje se antiproliferativno djelovanje MCD koji bi se mogli primjenjivati u antitumorskoj terapiji. Prije početka primjene u kliničkoj praksi, potrebno je istražiti hoće li novi monometinski cijaninski derivati djelovati mutageno.

Cilj istraživanja: Cilj ovog istraživanja bio je utvrđivanje potencijalno mutagenih svojstava dvaju novih monometinskih cijaninskih derivata, MCD 4 i MCD 8, na genetički modificiranim sojevima bakterija *Salmonella typhimurium* TA100 i TA1535 Amesovim testom.

Materijal i metode: Proizvođači kemikalija je MOLTOX, Boone (SAD) i Acros Organics, Geel (Belgija). Ispitivani spojevi, MCD 4 i MCD 8 pripremljeni su u koncentracijama od 10⁻⁴, 10⁻⁵ i 10⁻⁶M. Kao pozitivna kontrola korišten je N Na 3 (natrijev azid) otopljen u sterilnoj destiliranoj vodi koncentracije 1,9 · 10⁻²M. Kao negativna kontrola primjenjen je DMSO (dimetilsulfoksid) i sterilna destilirana voda. Inkubacija bakterijskih kultura trajala je 48 h na 37 °C. Amesov test mutagenosti proveden je prema MOLTOX-ovoj uputu bez S9 sustava aktivacije enzima. Istraživanje je provedeno u duplikatima.

Rezultati: Po završetku eksperimenta utvrđeno je da niti jedan od ispitivanih monometinskih cijaninskih derivata ne izaziva značajan porast revertantnih kolonija. Naprotiv, zabilježen je manji broj poraslih revertantnih kolonija na TA100 soju tretiranom MCD 4 nego na negativnoj kontroli. Na istom soju, MCD 8 dovodi do povećanog broja revertantnih kolonija u odnosu na negativne kontrole.

Zaključak: Potencijalno mutageni učinak MCD 4 i MCD 8 na soju *Salmonellae typhimurium* TA1535 nije dokazan. MCD 4 ima potencijalno baktericidan učinak, a MCD 8 je suspektno mutagen što je potrebno dodatno istražiti. Prisutnost pKM101 plazmida i razlika u kemijskoj strukturi ispitivanih spojeva vjerojatni su uzroci djelovanja MCD 4 i MCD 8 na TA100 soju.

Ključne riječi: Ames test; monometinski cijaninski derivati; mutagenost.

ANALIZA RAZINE EKSPRESIJE PROTEINA GAPDH, Akt i p53 U STANICAMA IZLOŽENIM *N*-SULFONILUREAMA METODOM WESTERN BLOT

Juraj Kirchofer¹, Marijana Jukić², Ljubica Glavaš-Obrovac²

¹Medicinski fakultet Osijek, Sveučilište J. J. Strossmayer u Osijeku, Osijek, Hrvatska, student

²Katedra za medicinsku kemiju, biokemiju i kliničku kemiju, Medicinski fakultet Osijek, Sveučilište J. J. Strossmayer u Osijeku, J. Huttlera 4, 31000 Osijek, Hrvatska

Uvod : Tumorske bolesti, kao vodeći uzrok smrtnosti u svijetu, dovode do potrebe za pronalaskom učinkovitije antitumorske terapije. Većina antitumorskih lijekova nije ciljno specifična te zahvaćaju i zdrave stanice. Novosintetizirani spojevi *N*-sulfoniluree pripadaju grupi antimetabolita koji postižu ciljnu specifičnost kroz interakciju s prirodnim metabolitima. Cilj studije : Odrediti moguće promjene ekspresije p53, Akt i GAPDH proteina u staničnim kulturama HeLa, CaCo-2, NCI-H358, K562 i Raji nakon tretmana spojevima D7-23 i R-191 *N*-sulfoniluree. Dodatno, prikazati usporedbu rezultata ekspresije proteina kod tretiranih i ne tretiranih stanica (kontrolna točka).

Metoda : Nakon 24-satnog tretmana, stanice su lizirane, a stanični proteini izolirani. Western blot metodom određeno je prisustvo analiziranih proteina p53, Akt i GAPDH uz korištenje p53, Akt i GAPDH protutijela. Uz pomoć ImageJ programa napravljena je relativna kvantifikacija proteina na membrani.

Rezultati : Primjenom Western blot metode dobivene su promjene u ekspresiji p53, Akt i GAPDH proteina prije i nakon tretmana komponentama D7-23 i R-191 *N*-sulfonilurea.

Značajna promjena u ekspresiji nakon tretmana s D7-23 i R-191 prisutna je kod proteina Akt u HeLa staničnoj liniji.

Zaključak : Na temelju dobivenih rezultata može se zaključiti kako su testne komponente pokazale potencijalno antitumorsko djelovanje na Akt signalni put u HeLa staničnoj liniji.

Ključne riječi : *N*-sulfonilurea, p53, Akt, GAPDH.

UČESTALOST RIJETKIH GENA SUSTAVA HLA U SPLITSKO-DALMATINSKOJ ŽUPANIJI

Matea Govorko¹, J. Matenda¹, S. Ribičić¹, S. Jaman², E. Čečuk-Jeličić²

¹ Sveučilišni odjel zdravstvenih studija, Sveučilište u Splitu; ²Laboratorij za tipizaciju tkiva, Zavod za transfuzijsku medicinu, KBC Split

Uvod: Sustav HLA je naziv za glavni sustav tkivne podudarnosti (eng. Major Histocompatibility Complex, MHC) u čovjeka. Smješten je na kraćem kraku 6. kromosoma, dijeli se na 3 razreda i nasljeđuje se kodominantno. Analiza gena sustava HLA primjenjuje se u transplantacijskoj i sudskoj medicini, dijagnostici bolesti te u populacijskim istraživanjima. Brojna istraživanja pokazala su da se zastupljenost alela HLA značajno razlikuje među pojedinim populacijama i etničkim grupama. Ovaj rad temelji se na otkrivanju učestalosti rijetkih gena sustava HLA u Splitsko-dalmatinskoj županiji (SDŽ), te usporedbi s učestalosti u populaciji RH.

Cilj: Istražiti učestalost rijetkih gena HLA-A, -B, -DRB1, u skupini bolesnika upućenih u Laboratorij za tipizaciju tkiva, KBC Split u svrhu određivanja genetske podložnosti za određene bolesti (RA, glutenska enteropatija, PsA, narkolepsija...) u razdoblju 2015. – 2017. godine (n= 3704), te ih usporediti sa učestalostima u populaciji RH.

Metode: Ispitanicima koji su upućeni u Laboratorij za tipizaciju tkiva u dijagnostičke svrhe određeni su antigeni lokusa HLA-A, -B, -DR koristeći komercijalne pločice (HLA-Ready Plate ABC72;-DR72; Inno-train). Tipizacije pacijenata s rijetkim antigenima određene serološkom metodom potvrđene su molekularnom metodom PCR-SSO, koristeći komercijalne kitove za tipizaciju niskog razlučivanja (Lifecodes HLA SSO-Typing Kits, Immucor). Učestalost gena sustava HLA određena je direktnim brojanjem. Za usporedbu razlike između ispitivane i kontrolne skupine korišten je Fisher-ov test (statistički značajnim rezultatom smatran je svaki kojem je vrijednost $P < 0,05$). Za kontrolnu skupinu korišteni su podaci iz prethodnih populacijskih studija (Grubić i sur., 2014.).

Rezultati: Unutar promatrane skupine pacijenata Splitsko-dalmatinske županije na lokusu HLA-A uočena su tri gena (HLA-A*29, -A*66, -A*80) s rijetkom učestalošću, na lokusu HLA-B četiri gena (HLA-B*37, -B*41, -B*45, -B*48), dok su na lokusu HLA-DRB1 uočena dva gena (HLA-DR*09, -DR*10). Analizom rezultata ispitanika Splitsko-dalmatinske županije uočena je namjanja učestalost gena HLA-A*80 (0,03%) i HLA-DRB1*09 (0,19%), dok su geni s najvećom učestalošću HLA-B*41 (1,01%) i HLA-DRB1*10 (1,2%). Usporedbom učestalosti gena u populaciji ispitanika SDŽ sa kontrolnom skupinom hrvatske populacije uočena je značajna razlika u učestalosti gena HLA-B*45 i HLA-B*37. Učestalost gena HLA-B*45 značajno je veća u populaciji ispitanika SDŽ (0,41% vs 0,19%, $p=0,0112$), dok je učestalost gena HLA-B*37 značajno manja (0,4% vs 0,85%, $p < 0,0001$).

Zaključak: Na temelju rezultata ove retrospektivne studije uočena je različita učestalost pojedinih rijetkih gena sustava HLA kod ispitanika u Splitsko-dalmatinskoj županiji u odnosu na populaciju Republike Hrvatske, što može biti posljedica povijesnih, geografskih i etničkih specifičnosti. Za potvrdu uočenih rezultata potrebno je nastaviti s populacijskim istraživanjima Splitsko-dalmatinske županije, te proširiti istraživanje i na susjedne regije.

Ključne riječi: HLA, populacija, PCR-SSO

BIOLOŠKI UČINCI NOVIH DERIVATA NUKLEOBAZA

J. Legac, Lj. Glavaš Obrovac

Medicinski fakultet u Osijeku, Osijek, Hrvatska

Uvod

Nukleobaze su organske molekule, sastavni dio nukleotida koji grade za život važne nukleinske kiseline: ribonukleinsku kiselinu (RNK) i deoksiribonukleinsku kiselinu (DNK). Biološka svojstva sulfonilnih derivata adenina predstavljaju važne strukture kao biološki agensi.

Ciljevi istraživanja

Cilj istraživanja je ispitati učinke novosintetiziranih spojeva na normalne i tumorske stanice u uvjetima *in vitro*. Postavljeni ciljevi istraživanja su: utvrditi povezanost spoja, koncentracije i inhibicije staničnog rasta, definirati spoj koji ima najveću učinkovitost na rast tumorskih stanica te odrediti promjene u staničnom mitohondrijskom potencijalu i način umiranja tretiranih stanica.

Materijali i metode

Novosintetizirani sulfonilni derivati adenina sintetizirani su na Institutu Ruđer Bošković na Zavodu za organsku kemiju i biokemiju u Zagrebu. Za potrebe *in vitro* istraživanja, spojevi (M-50, R-191 i R-73) otopljeni su u dimetilsulfoksidu (DMSO) kao 10^{-2} mol/L (M) otopine. Stanice su uzgajane u bocama za uzgoj u CO₂ inkubatoru pri 37°C i 5 % CO₂. HeLa, CaCo-2, MDCK 1 stanične linije kultivirane su u DMEM mediju. K562 stanična linija kultivirana je u RPMI-1640 mediju. Citotoksični učinak na rast tumorskih stanica može se odrediti upotrebom metiltetrazolijevog testa (MTT) testa.

Rezultati

Citostatska ispitivanja novosintetiziranih spojeva na staničnim linijama HeLa, CaCo-2, K562 i MDCK-1 pokazala su da najizraženiji citotoksičan učinak ima spoj R-191. Spojevi M-50 i R-73 imaju slab citotoksičan učinak u koncentraciji od 10^{-5} M na stanične linije MDCK-1, HeLa, CaCO-2 i K562 s postotkom preživljenja 80 – 100 %, dok u koncentraciji od 10^{-4} M imaju nešto veći citotoksičan učinak gdje je postotak preživljenja od 40 – 80 %. R-191 uzrokuje narušavanje membranskog mitohondrijskog potencijala u K562 stanicama.

Zaključak

U ovom radu dokazano je da ispitivani sulfonilni derivati smanjuju stanični rast tumorskim stanicama ovisno o tipu stanica i koncentraciji. Najveću citotoksičnost pokazuje R-191 te najveću otpornost pokazuje HeLa stanična linija.

Ključne riječi: biološka svojstva nukleozida, citotoksičnost, protutumorski učinak, kultura tkiva.

