



5. KONGRES STRUKOVNOG RAZREDA ZA
MEDICINSKO-LABORATORIJSKU DJELATNOST HRVATSKE
KOMORE ZDRAVSTVENIH RADNIKA

MEDICINSKO-LABORATORIJSKA DJELATNOST I SUVREMENA DIJAGNOSTIKA, JESMO LI SUSTIGLI BUDUĆNOST?

5TH CONGRESS OF THE PROFESSIONAL DEPARTMENT
FOR MEDICAL LABORATORY ACTIVITIES
OF THE CROATIAN CHAMBER OF HEALTH PROFESSIONALS

MEDICAL LABORATORY ACTIVITY AND MODERN DIAGNOSTICS, HAVE WE CAUGHT UP WITH THE FUTURE?

KNJIGA SAŽETAKA BOOK OF ABSTRACTS

ZAGREB
14. - 17. 09. 2023.

Pokrovitelji



5. kongres Strukovnog razreda medicinsko laboratorijske djelatnosti
Hrvatske komore zdravstvenih radnika s međunarodnim sudjelovanjem
MEDICINSKO-LABORATORIJSKA DJELATNOST I SUVREMENA DIJAGNOSTIKA,
Jesmo li sustigli budućnost?

*5th Congress of the Professional Department for Medical Laboratory Activities
of the Croatian Chamber of Health Professionals with international participation*

MEDICAL LABORATORY ACTIVITY AND MODERN DIAGNOSTICS,
Have we caught up with the future?

**5. KONGRES STRUKOVNOG RAZREDA ZA
MEDICINSKO-LABORATORIJSKU DJELATNOST HRVATSKE
KOMORE ZDRAVSTVENIH RADNIKA**

**MEDICINSKO-LABORATORIJSKA DJELATNOST
I SUVREMENA DIJAGNOSTIKA,
JESMO LI SUSTIGLI BUDUĆNOST?**

**5TH CONGRESS OF THE PROFESSIONAL DEPARTMENT
FOR MEDICAL LABORATORY ACTIVITIES
OF THE CROATIAN CHAMBER OF HEALTH PROFESSIONALS**

**MEDICAL LABORATORY
ACTIVITY AND MODERN DIAGNOSTICS,
HAVE WE CAUGHT UP WITH THE FUTURE?**

**KNJIGA SAŽETAKA
BOOK OF ABSTRACTS**

Zagreb, 14. - 17.9.2023.

Nakladnik / Publisher

Hrvatska komora zdravstvenih radnika, Strukovni razred medicinsko laboratorijske djelatnosti
Croatian Chamber of Health Workers, Professional class of medical laboratory activities

Za nakladnika / For the publisher

Katja Puljčan

Urednica / Editor

Ljubica Glavaš-Obrovac

Dizajn naslovnice i logotipa / Cover page and logo design

Conventus Credo d.o.o., Zagreb

Priprema / Layout

Conventus Credo d.o.o., Zagreb

Tisak / Press

Tiskara Laser Plus d.o.o., Zagreb

Zagreb, rujan 2023. / September 2023.

CIP zapis je dostupan u računalnome katalogu Nacionalne i sveučilišne knjižnice
u Zagrebu pod brojem 001192957.

A CIP catalogue record for this book is available in the Online Catalogue of the National
and University Library in Zagreb 001192957.

ISBN 978-953-50750-0-4

Organizator/Organiser

Hrvatska komora zdravstvenih radnika, Strukovni razred medicinsko laboratorijske djelatnosti
Croatian Chamber of Health Professionals, Professional Department for Medical Laboratory Activities

Uz potporu/supported by

Zoran Milanović
Predsjednik Republike Hrvatske
President of the Republic of Croatia

Pokrovitelji / Under the Auspices of the

Ministarstvo znanosti i obrazovanja Republike Hrvatske
Ministry of Science and Education of the Republic of Croatia

Medicinski fakultet Osijek, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku
Faculty of Medicine, Josip Juraj Strossmayer University in Osijek

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

Sveučilišni odjel zdravstvenih studija, Sveučilište u Splitu
University Department of Health Studies, University of Split

Zdravstveno veleučilište Zagreb
University of Applied Health Sciences

European Association of Biomedical Scientists - EPBS

Grad Zagreb
City of Zagreb

Hrvatska udruga laboratorijske medicine
Croatian Association of Laboratory Medicine

Hrvatska udruga citoteknologa – HUCIT
Croatian Association of Cytotechnologists - HUCIT

Hrvatska udruga studenata medicinsko laboratorijske dijagnostike - CMLDSA
Croatian Association of Medical Laboratory Diagnostics Students - CMLDSA

Znanstveni odbor/Scientific Committee

Predsjednica/Chair: Ljubica Glavaš-Obrovac

Članovi/Members: Martina Abramović, Marina Bakula, Nives Božić, Anita Breški, Valentina Đurek, Anica Džajić, Suzana Harabajs, Zoran Ivezić, Ana Juras, Vesna Kušec, Ivana Jakušić, Miljenko Majdak Manda Markanović, Sanela Mišetić, Marica Slivar – Renić, Mirjana Stupnišek

Organizacijski odbor/Organising Committee

Predsjednica/Chair: Katja Puljčan

Članovi/Members: Nives Božić, Zoran Ivezić, Ivana Jakušić, Kristina Kopic, Miljenko Majdak

Mjesto održavanja / Meeting Venue

Hotel Dubrovnik, Ljudevita Gaja 1, Zagreb

SADRŽAJ

/ TABLE OF CONTENTS

Dobrodošlica	8
Program skupa / Scientific programme	9
Popis posterskih izlaganja / Poster List	16
Sažetci plenarnih predavanja / Plenary Lecture Abstracts	21
Sažetci pozvanih predavanja / Invited Lecture Abstracts	25
Sažetci kratkih prezentacija / Short Presentation Abstracts	45
Sažetci posterskih izlaganja / Poster Abstracts	75
Kazalo autora / Author index	134
Sponzori / Sponsors	139

DOBRODOŠLI

Poštovane kolegice i kolege,

s izuzetnim zadovoljstvom i veseljem Vam želim dobrodošlicu na 5. kongresu Strukovnog razreda medicinsko laboratorijske djelatnosti Hrvatske komore zdravstvenih radnika s međunarodnim sudjelovanjem koji će održava od 14. do 17.9.2023. u hotelu Dubrovnik, u Zagrebu, u Hrvatskoj. Medicinsko-laboratorijska djelatnost ima duge korijene u medicini s počecima još sredine 20. stoljeća kada počinje stvaranje struke koja svojim profesionalnim razvojem postaje integrirani dio svakodnevnog dijagnostike. Vertikalnim obrazovanjem od zdravstveno-laboratorijskog tehničara, preko prvostupnika pa sve do magistra medicinsko-laboratorijske dijagnostike u potpunosti smo zaokružili ovaj važan segment pružanja odgovarajuće zdravstvene zaštite pacijenata u svim granama medicinsko laboratorijske djelatnosti koju obuhvaćaju mikrobiologija, patologija, citologija, transfuzijska medicina te klinička kemija i hematologija. U zadnje dvije izazovne godine pandemije Covid-19 naše kolegice i kolege su pokazale izuzetno znanje, stručnost i sposobnost. Kao struka pokazali smo da smo neizostavni u uzimanju uzoraka, obradi i dijagnostici korona virusa, te smo pokazali kako se profesionalnim pristupom i kontinuiranom edukacijom u najnovijim metodologijama naša struka profilirala u sam vrh medicinsko-laboratorijskih stručnjaka. Naš strukovni razred je dio Hrvatske komore zdravstvenih radnika kojeg čini preko 4000 članova koji već 12 godina kroz brojna sudjelovanja na kongresima, stručnim susretima, znanstvenim radovima i projektima, objavama stručnih knjiga te obranom doktorskih disertacija, našu djelatnost podižu na nove razine sve sa svrhom kako bi krajnji korisnik naših usluga imao najbolju korist: cjelovitu i odgovarajuću zdravstvenu zaštitu.

Tema kongresa je: Jesmo li sustigli budućnost? na kojem će pozvani predavači prikazati svoje radove, brojni stručnjaci u svojim područjima prikazati kako i gdje stojimo te zašto je svima nama ljubav prema novom nešto što nam je zajedničko i što nas pokreće u svakodnevnom laboratorijskom životu.

Budućnost je tu, samo čeka da iskoristimo priliku.

Budimo zajedno ujedinjeni u podršci jedni drugima, podijelimo znanje koje smo stekli i pokažimo kako je medicinsko-laboratorijska djelatnost sastojak bez kojega se ne može.

Srdačno Vas pozdravljam i zahvaljujem na dolasku!

Katja Puljčan, mag. med. lab. diag.
Predsjednica organizacijskog odbora Kongresa

PROGRAM SKUPA / SCIENTIFIC PROGRAMME

Četvrtak, 14.9.2023. / Thursday, 14.9.2023
Dvorana/Hall Ban Jelačić

13:00–17:00 **Prijava i registracija sudionika/Registration of participants**

17:00–17:30 **Otvorenje Kongresa/Congress Opening Ceremony**

PLENARNA I POZVANA PREDAVANJA/PLENARY AND INVITED LECTURES

Moderatori/*Chairs*: Ljubica Glavaš-Obrovac, Vesna Kušec

17:30–18:15 **Plenarno predavanje / Plenary lecture**

FROM BENCH TO BEDSIDE: TRANSLATING SCIENCE FROM THE LAB TO CLINICAL PRACTICE

Dragan Primorac

18:15–18:35 **Pozvana predavanja / Invited lectures**

INTERNATIONAL FEDERATION OF BIOMEDICAL LABORATORY SCIENCE - THE IMPORTANCE OF MEMBERSHIP

Mirjana Stupnišek

18:35–18:55 THE VITAL ROLE OF BIOMEDICAL SCIENTISTS IN EUROPE AND CROATIA FOR A HEARTY HEALTH CARE SYSTEM

Fernando Mendes

Petak, 15.9.2023. / Friday, 15.9.2023

Dvorana/Hall Ban Jelačić

**TRANSFUZIJSKA MEDICINA I TRANSPLANTACIJSKA BIOLOGIJA / TRANSFUSION
MEDICINE AND TRANPLANTATION BIOLOGY**

Moderatori/*Chairs*: Nives Božić, Sanela Mišetić

- 9:00-9:45 **Plenarno predavanje / Plenary lecture**
STEATOZA I TRANSPLANTACIJA JETRE
Nela Sršen
- 9:50-10:10 **Pozvana predavanja / Invited lectures**
ORGANIZACIJA, ULOGA I VAŽNOST IMUNOGENETIKE U DIJAGNOSTICI BOLESTI I
TRANSPLANTACIJSKOJ MEDICINI
Renata Žunec
- 10:10-10:30 PRAĆENJE KIMERIZMA NAKON TRANSPLANTACIJE KRVOTVORNIH MATIČNIH STANICA
Katarina Štingl Janković
- 10:30-10:40 **Kratke prezentacije / Short presentations**
EKSANGVINOTRANSFUZIJA
Dajana Đurić
- 10:40-10:50 Pitanja i rasprava/Questions and discussion
- 10:50-11:30 **Posteri/Posters**
- 10:50-11:30 **Pauza/Break**

IMUNOLOGIJA I IMUNOGENETIKA/ IMMUNOLOGY AND IMMUNOGENETICS

Moderatori/*Chairs*: Esmā Čečuk-Jeličić, Nives Božić

- 11:30-11:50 **Pozvano predavanje/Invited lecture**
OGRANIČAVAJUĆI FAKTORI U ALOGENIČNOJ TRANSPLANTACIJI KRVOTOVORNIH
MATIČNIH STANICA
Esmā Čečuk-Jeličić
- 11:55-12:05 **Kratke prezentacije / Short presentations**
PRETRANSPLANTACIJSKA IMUNOGENETIČKA OBRADA MOGUĆIH PRIMATELJA ORGANA
U PROGRAMU KADAVERIČNE TRANSPLANTACIJE
Mirica Batarelo, Natalija Martinez, Renata Žunec
- 12:05-12:15 VAŽNOST PROTUTIJELA non-HLA U PREDTRANSPLANTACIJSKOJ OBRADI PACIJENTA
Aida Mujić Franić, Marko Lilić, Nataša Katalinić, Ljubica Glavaš-Obrovac
- 12:15-12:25 PRIPREMA IMUNOLOŠKI VISOKO RIZIČNIH BOLESNIKA ZA TRANSPLANTACIJU BUBREGA
Vlatka Sinković
- 12:25-12:40 Pitanja i rasprava/Questions and discussion
- 12:40 – 14:00 **Pauza/Break**
-

KLINIČKA BIOKEMIJA I HEMATOLOGIJA /CLINICAL BIOCHEMISTRY AND HEMATOLOGY

Moderatori/*Chairs*: Vesna Kušec, Ivana Jakušić

Pozvana predavanja/Invited lectures

- 14:00-14:20 SUVREMENA LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA HEMOGLOBINOPATIJA
Danica Matišić, Dragana Šegulja
- 14:25-14:45 LABORATORIJSKA ENDOKRINOLOGIJA – RAZUMIJEVANJE OGRANIČENJA MJERNIH METODA
Vesna Kušec
- 14:50-15:10 HEMATOLOŠKA OBRADA AKUTNIH LEUKEMIJA – SADAŠNJOST I BUDUĆNOST
Sanela Hajro, Melina Drljo
- 15:10-15:20 **Kratke prezentacije / Short presentations**
USPOREDBA GLUKOMETARA ACCU-CHEK PERFORMA I VIVACHEK INO S ANALITIČKIM SUSTAVOM BECKMAN COULTER DXC700 AU
Karlo Živatović
- 15:20-15:30 UČESTALOST GESTACIJSKOG DIJABETESA KOD TRUDNICA PODVRGnutIH OGTT U OPĆOJ BOLNICI i „DR. JOSIP BENČEVIĆ“ SLAVONSKI BROD
Marina Martinović
- 15:30-15:40 VRIJEDNOSTI BIOKEMIJSKIH ANALIZA U ODNOSU NA STUPANJ OBOLJENJA COVID POZITIVNIH PACIJENATA
Ehlimana Pobrić, Eedhem Hasković, Kenan Galijašević
- 15:40-15:50 KAKO DO EFIKASNOG LABORATORIJSKOG MENADŽMENTA
Emina Smajić
- 15:50-16:00 Pitanja i rasprava/Questions and discussion
- 16:00-16:30 **Poster/Posters**
- 16:00-16:30 **Pauza/Break**
-

**MOLEKULARNA DIJAGNOSTIKA I I INOVATIVNE TEHNOLOGIJE U LABORATORIJSKOJ MEDICINI/
MOLECULAR DIAGNOSTICS AND INNOVATIVE TECHNOLOGIES IN LABORATORY MEDICINE**

Moderatori/*Chairs*: Ljubica Glavaš-Obrovac, Zoran Ivezic

- 16:30-16:50 **Pozvana predavanja/Invited lectures**
miRNA DRIVEN MOLECULAR PROFILE OF PAINFUL NEUROPATHIES: INNOVATIVE TISSUE REAPPRAISAL FOR TAILROED THERAPIES
Mirna Anđelić, Erika Salvi, Stefania Marcuzzo, Margherita Marchi, Raffaella Lombardi, Daniele Cartelli, Daniele Cazzato, Elkadia Mehmeti, Andrea Gelemanovic, Matilde Paolini, Carlotta Pardo, Ilaria D'Amato, Janneke G.J. Hoeijmakers, Sulayman Dib-Hajj, Stephen G. Waxman, Catharina G. Faber, Giuseppe Lauria
- 16:55-17:15 RNA-Seq ANALYSIS OF TCR REPERTOIRE IN FLOW-SORTED MAIT AND $\gamma\delta$ T CELLS OF PSORIASIS VULGARIS PATIENTS
Maja Jirouš, Kristina Glavaš, Vera Plužarić, Barbara Viljetić, Tetuta Opačak-Bernardi, Marija Šola, Maja Tolušić Levak, Mario Štefanić, Stana Tokić, Ljubica Glavaš-Obrovac
- 17:20-17:30 **Kratke prezentacije / Short presentations**
PRIMJENA MLPA METODE U ODREĐIVANJU BROJA KOPIJA GENA *SMN1* I *SMN2* KOD PACIJENTA SA SUMNJOM NA SPINALNU MIŠIĆNU ATROFIJU
Ana Acman Barišić, Ana Merkle Šorgić, Hana Ljubić, Domagoj Caban, Karolina Petrović, Ivana Rako
- 17:30 - 17:40 DETECTION OF CRISPR-CAS SYSTEM IN CARBAPENEM-RESISTANT AND CARBAPENEM-SUSCEPTIBLE *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* CLINICAL ISOLATES IN CROATIA – PRELIMINARY RESULTS
Ivana Jurić, Ivana Ivančić-Baće, Zrinka Bošnjak, Ana Budimir, Manda Markanović, Tomislav Kuliš, Ivana Mareković
- 17:40 - 17:50 ODREĐIVANJE VIRUSNOG OPTEREĆENJA I KORELACIJA SA KOPIJAMA GENOMA U KLINIČKIM UZORCIMA OBOLJELIH OD INFEKCIJE MPOX VIRUSA
Ivona Spudić, Stjepan Mitrović, Ivan-Christian Kurolt, Barbara Anđelić Dmitrović
- 17:50-18:00 GENSKO PROFILIRANJE TUMORA U PATOLOGIJI
Marina Bakula
- 18:00-18:10 Pitanja i rasprava/Questions and discussion

STUDENSKA SEKCIJA/STUDENT SECTION

Moderatori/*Chairs*: Davorka Sutlović, Ana Juras

- 18:10-18:30 **Pozvano predavanje / Invited lecture**
STUDIJSKI PROGRAMI MEDICINSKO LABORATORIJSKE DIJAGNOSTIKE U REPUBLICI HRVATSKOJ
Davorka Sutlović
- 18:35 – 18:45 **Kratke prezentacije / Short presentations**
ANALIZA DOBRIH PRAKSI STUDIJSKIH PROGRAMA IZ BIOMEDICINSKO-LABORATORIJSKE ZNANOSTI KOJI SE IZVODE U VELIKOJ BRITANJI
Ljiljana Brnetić
- 18:45-19:30 **Okrugli stol / Round table**
PRIJEDIPLOMSKI I DIPLOMSKI STUDIJSKI PROGRAMI MEDICINSKO-LABORATORIJSKE DIJAGNOSTIKE U REPUBLICI HRVATSKOJ

Subota, 16.9.2023. / Saturday, 16.9. 2023

Dvorana / Hall Ban Jelačić

MIKROBIOLOGIJA S PARAZITOLOGIJOM/MICROBIOLOGY WITH PARASITOLOGY

Moderatori/*Chairs*: Ana Budimir, Miljenko Majdak

- 8:30-9:15 **Plenarno predavanje/Plenary lecture**
STORY OF A PANDEMIC: THE LESSONS WE HAVE LEARNED
Giorgio Palù
- 9:20-9:40 **Pozvana predavanja / Invited lectures**
DIJAGNOSTIČKI STEWARDSHIP U KLINIČKOJ MIKROBIOLOGIJI
Ana Budimir
- 9:40-10:00 LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA SIFILISA - DOSEZI I OGRANIČENJA
Branka Marinović
- 10:00-10:20 DOMETI I OGRANIČENJA JEDINSTVENE MIKOLOŠKE LABORATORIJSKE DIJAGNOSTIKE
Mihael Skerlev
- 10:20-10:30 Pitanja i rasprava/Questions and discussion
-
- 10:30 – 11:00 **Pauza/Break**
-
- 11:00-11:10 **Kratke prezentacije / Short presentations**
UČESTALOST KARBAPENEMAZA PRODUCIRAJUĆIH SOJEVA *K. PNEUMONIAE*
IZOLIRANIH IZ URINA PRIJE, ZA VRIJEME I NAKON PANDEMIJE COVID-19
Marija Lovrić, Filipa Merčep, Paul Bohnert, Zvonimir Barišić, Vanja Kaliterna
- 11:10-11:20 ANTIFUNGAL SUSCEPTIBILITY TESTING OF THE MOST-RELEVANT PATHOGENIC MOULDS
Amalija Lukić, Kristina Rogalo, Ana Pešut
- 11:20-11:30 ANTAGONISTIČKI UČINAK *STREPTOCOCCUS SALIVARIUS* K 12 NA RAZVOJ VIRULENTNOG DENTALNOG BIOFILMA
Gabrijela Begić, Ivana Jelovica Badovinac, Ljerka Karleuša, Kristina Kralik, Olga Cvijanovic Pelozo Cvijanovic Pelozo, Davor Kuiš, Ivana Gobi
- 11:30-11:40 ZDRAVSTVENO-HIGIJENSKI ZNAČAJ MONITORINGA MIKOTOKSINA - DIJAGNOSTIČKI PRISTUP
Amir Ibrahimagić
- 11:40-11:50 MIKROBIOLOŠKA OBRADA KRONIČNOG PROSTATITISA METODOM 5 ČAŠA
Vlasta Krenajz, Lidija Žele Starčević, Luka Penezić, Ana Budimir
- 11:50-12:00 DIJAGNOSTIKA TUBERKULOZE- PROŠLOST, SADAŠNJOST I BUDUĆNOST
Manda Markanović
- 12:00-12:10 Pitanja i rasprava/Questions and discussion
-
- 12:10-12:45 **Poster/Posters**
-
- 12:45- 13:45 **Pauza/Break**
-

Subota, 16.9.2023. / Saturday, 16.9. 2023

Dvorana / Hall Centrum

PATOHISTOLOGIJA I CITOLOGIJA / PATHOHISTOLOGY AND CYTOLOGY

Moderatori/*Chairs*: Silvana Smojver-Ježek, Anita Breški

- 13:45-14:05 **Pozvana predavanja / *Invited lectures***
DIGITALNA PATOLOGIJA
Zlatko Marušić
- 14:05-14:25 PROBIR ZA RAK VRATA MATERNICE - PROBIRNI TESTOVI I NJIHOVA PRIMJENA
Danijela Vrdoljak Mozetič
- 14:25-14:45 CITOLOŠKA DIJAGNOSTIKA U PULMOLOGIJI
Silvana Smojver-Ježek
- 14:45-14:55 **Kratke prezentacije / *Short presentations***
VALIDACIJA I UVOĐENJE MILESTONE TKIVNOG PROCESORA U RUTINSKI RAD
Antonio Barać
- 14:55-15:05 DIJAGNOSTIČKI ZNAČAJ EBUS-TBNA (ENDOBRONHALNI ULTRAZVUK -
TRANSBRONHALNA ASPIRACIJA IGLOM) U KLINIČKOJ CITOLOGIJI
Sandra Šlegl, Nevena Radičević, Ankica Vasilj
- 15:05-15:15 PRIMJENA MASENE CITOMETRIJE U DETEKCIJI BIOMARKERA U PREKANCEROZNI
LEZIJAMA VRATA MATERNICE
Ena Pešut, Ivana Šimić, Rajko Fureš, Ivana Erceg Ivkošić, Nina Milutin Gašperov, Ivan Sabol
- 15:15-15:25 NOVE BIOPTIČKE TEHNIKE I VAŽNOST PRAVILNE PRIPREME UZORAKA TKIVA
Marija Dodig, Stanislava Didić-Ilijaš, Martina Abramović, Lucija Azinović, Tatjana
Kovačević, Ana Mataić, Sven Seiwert
- 15:25-15:35 IMUNOHISTOKEMIJSKA EKSPRESIJA ERG U BIOPSIJAMA PROSTATE IGLOM I UZORCIMA
PROSTATEKTOMIJE ISTIH BOLESNIKA
Jelena Barać Žutelija, Antonela Barać, Marina Bakula, Božo Krušlin
- 15:35-15:45 EVALUACIJA GENE FUSION TESTA NA IDYLLA™ PLATFORMI ZA DETEKCIJU FUZIJE ALK,
ROS I MET GENA U HISTOLOŠKIM I CITOLOŠKIM UZORCIMA
Matea Kos
- 16:00-16:15 Pitanja i rasprava/Questions and discussion
-
- 16:15 – 16:45 **Pauza/Break**
-

SLOBODNE TEME/FREE TOPICS

Moderatori/*Chairs*: Marica Slivar-Renić, Vesna Kušec

- 16:45-16:55 **Kratke prezentacije / Short presentations**
PROCJENA RIZIKA NA RADNOM MJESTU SA ASPEKTA BIOLOŠKIH ŠTETNOSTI
Jasmina Kisija-Bajric
- 16:55-17:05 USPOREDBA DVIJE METODE MODELIRANJA 3D STANIČNIH SFEROIDA
Zorislava Živković, Teuta Opačak-Bernardi
- 17:05-17:15 HIBRIDNE MOLEKULE KAO ATRAKTIVNA STRATEGIJA DIZAJNA EFIKASNIJIH
PROTUUPALNIH LIJEKOVA
Antonio Periš
- 17:15-17:25 UHPLC-MS/MS ODREĐIVANE KANABIDIOLA U BIOLOŠKIM UZORCIMA
Nina Kalajžić, Ana Batinić, Franko Burčul, Davorka Sutlović
- 17:25-17:30 Pitanja i rasprava/Questions and discussion
- 17:30-18:00 **Sponzorirano predavanje/ Sponsored lecture**
IMPLEMENTACIJA TESTIRANJA NT-pro BNP U PRIMARNU ZDRAVSTVENU ZAŠTITU
Roche
Davor Miličić
- 18:00-19:00 **Panel-rasprava/Panel discussion:**

MEDICINSKO-LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA: RAZVOJ STRUKE U SKLADU SA
SUVREMENIM POTREBAMA ZDRAVSTVENE ZAŠTITE / *MEDICAL-LABORATORY
DIAGNOSTICS: DEVELOPMENT OF THE PROFESSION IN ACCORDANCE WITH MODERN NEEDS
OF THE HEALTH CARE*
Moderator/*Chair*: Mislav Togonal

Sudionici rasprave:
Prof. dr. sc. Vesna Kušec
Predsjednica Hrvatskog društva za laboratorijsku medicinu HLZ

Prof.dr.sc. Ljubica Glavaš-Obrovac
Voditeljica SPS i SDS Medicinsko laboratorijske dijagnostike, Medicinski fakultet Osijek
Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

prof.dr.sc. Irena Drmić-Hofman
Pomoćnica pročelnika Odjela zdravstvenih studija Sveučilišta u Splitu

izv.prof. dr. sc. Sandra Pavičić Žeželj
Prodekanica za studije Sanitarno inženjerstvo i Medicinsko laboratorijska dijagnostika,
Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci

Ivana Delić, mag. med. biochem., spec. med. biokemije i lab. medicine
Hrvatska komora medicinskih biokemičara

Katja Puljčan, mag.med.lab.diag.
Hrvatska komora zdravstvenih radnika

**Zatvaranje kongresa/
Closing ceremony**

POSTERI / POSTERS

Petak, 15.9.2023. / Friday, 15.9.2023.

10:50-11:30	TRANSFUZIJSKA MEDICINA I TRANSPLANTACIJSKA BIOLOGIJA / TRANSFUSION MEDICINE AND TRANPLANTATION BIOLOGY Dvorana/Hall Lobby
P1	DETEKCIJA DOBROVOLJNOG DARIVATELJA KRVI S PREBOLJENOM INFEKCIJOM HEPATITISOM B-PRIKAZ SLUČAJA Admir Dilberović , Jurica Arapović, Ana Stanić, Lidija Kola, Dolores Martinović
P2	NAJČEŠĆI UZROK ODBIJANJA DOBROVOLJNIH DARIVATELJA KRVI U KLINIČKOM ZAVODU ZA TRANSFUZIJSKU MEDICINU U OSIJEKU TIJEKOM 2014. I 2020. GODINE Matea Rebrina
P3	UTJECAJ DARATUMUMABA NA PRIJETRANSFUZIJSKO ISPITIVANJE I TRANSFUZIJSKO LIJEČENJE Lidija Kola, Admir Dilberović , Ivan Kola
P4	AUTOLOGNI OČNI SERUM Simona Dukić , Davor Kihar
P5	REZULTATI NAT PROBIRA DARIVATELJA ORGANA, TKIVA I MATIČNIH STANICA NA VIRUSE U 2022. GODINI Valentina Karakašić , Lada Blažević, Mario Iveljić, Josip Valentić, Ivor Ćuruvija, Ivana Babić, Jasna Bingulac-Popović
P6	PROIZVODNJA KONVALESCENTNE PLAZME U DOBA PANDEMIJE COVID-19 I POSTPANDEMIJSKOM RAZDOBLJU Matea Tomas , Željka Lubina, Matea Vinković, Ana Hećimović
P7	PRAĆENJE ANTITIJELA HLA KOD BUBREŽNIH BOLESNIKA METODOM LUMINEX Magdalena Svetec , Lucija Jukić, Marija Burek Kamenarić
P8	UTVRĐIVANJE STATUSA KIMERIZMA KOD BOLESNIKA NAKON DRUGE TRANSPLANTACIJE KRVOTVORNIH MATIČNIH STANICA S RAZLIČITIM DAVATELJEM Jelena Piškorić , Katarina Štingl Janković, Marija Maskalan, Zorana Grubić
P9	ODREĐIVANJE GENA HLA METODOM SEKVENCIRANJA NOVE GENERACIJE (NGS) Danijela Sviličić , Marija Maskalan, Renata Žunec, Zorana Grubić
10:50-11:20	IMUNOLOGIJA I IMUNOGENETIKA/IMMUNOLOGY AND IMMUNOGENETICS Dvorana/Hall Zrinski
P10	KLINIČKA POVEZANOST RO52 (TRIM21) ANTITIJELA SA SISTEMSKIM UPALNIM AUTOIMUNIM BOLESTIMA Kristina Grubišić , Tanja Ogrizović Ban, Vedrana Drvar
P11	TEST AKTIVACIJE BAZOFILA U DOKAZIVANJU ALERGIJA UZROKOVANIH NUTRITIVNIM ALERGENIMA Darija Vrzić , Natalija Milec, Tea Duvančić, Željka Tomas, Vesna Kušec
P12	ODREĐIVANJE AUTOANTITIJELA SPECIFIČNIH ZA MIOZITISE U BOLESNIKA S IDIOPATSKIM UPALNIM MIOPATIJAMA Nives Radić , Andreja Coce Zec, Mirjana Jović, Anita Sever Poljak
P13	PRIKAZ SLUČAJA BOLESNIKA S HASHIMOTOVOM BOLESTI Milena Nadrčić , Esmā Čečuk-Jeličić, Sonja Jaman Marija Banić, Antonela Tokalić, Iva Malenica, Daniela Šupe-Domić

11:20-11:30

STUDENTSKA SEKCIJA/STUDENT SECTION
Dvorana/Hall Zrinski

- P14 MIKROSPOROZA U SPLITSKO-DALMATINSKOJ ŽUPANIJI OD 2015. DO 2019. GODINE
Bruna Čavka, Marija Drmić, Katarina Šiško Kraljević, Maja Miškulin

16:00-16:30

KLINIČKA BIOKEMIJA I HEMATOLOGIJA/CLINICAL BIOCHEMISTRY
AND HEMATOLOGY

Dvorana/Hall Lobby

- P15 USPOREDBA KONCENTRACIJE KOLESTEROLA U KAPILARNOJ I VENSKOJ KRVI
Marija Hren, Maja **Čurčić**, **Ivana Marušić**, Jelena Culej
- P16 POREMEĆAJI ACIDOBAZNE RAVNOTEŽE I COVID-19
Tamara Vukosavljević, Jolene Christina Bannister, Lorena Honović
- P17 ANALITIČKA VERIFIKACIJA ANALIZATORA COBAS PURE ZA ODREĐIVANJE TUMORSKIH BILJEGA CA 19-9, CEA i tPSA
Petra Medač Čorak, **Nikolina Kočnar**, Benjamin **Čorković**, Velimir Belčić
- P18 ANALITIČKA VERIFIKACIJA ANALIZATORA COBAS PURE ZA ODREĐIVANJE KALIJA, KREATININA I C-REAKTIVNOG PROTEINA
Petra Medač Čorak, **Benjamin Čorković**, Nikolina Kočnar, Velimir Belčić
- P19 PREVALENCIJA FENOTIPSKIH VARIJANTI ASIJALOTTRANSFERINA U SERUMU
Sandra Matijević, L. Cenko, I. Domitrek
- P20 ANALIZA PRISUTNOSTI ALKOHOLA U UZORCIMA KRVI U ZAVODU ZA MEDICINSKO LABORATORIJSKU DIJAGNOSTIKU KBC-A SPLIT OD 2015. DO 2022. GODINE
Jelena Katavić, Livija Slišković, Leida Tandara, Ivan Jerković
- P21 MJERENJE KLORIDA U ZNOJU UPOTREBOM RAZLIČITIH METODA – PRIKAZ SLUČAJA CISTIČNE FIBROZE
Ena Liber, Marija Mitrić, Dorotea Strelar
- P22 POBOLJŠANJA U PREDANALITIČKIM POSTUPCIMA U MEDICINSKO-BIOKEMIJSKOM LABORATORIJU - PERSPEKTIVA IZ PRAKSE
Matija Sakalj, Davor Tepeš
- P23 UČESTALOST HEMOLIZE U UZORCIMA ZA HITNE PRETRAGE - PREDNOST ELEKTRONIČKOG PRAĆENJA
Zdravko Vrbanić, Marijana Dianić, Ivana Baršić Lapić
- P24 IZOLACIJA CD138+ PLAZMA STANICA IZ KOŠTANE SRŽI
Valerija Vidmar, Anđelka Đira, Ivana Žugčić, Ivana Franić Šimić, Iva Semren, Sanja Davidović-Mrsić
- P25 METODA FLUORESCENTNE IN SITU HIBRIDIZACIJE U DIJAGNOSTICI AKUTNIH LEUKEMIJA
Maja Kušpilić, Anđelka Đira, Valerija Vidmar, Ivana Žiger, Ana Marija Miličević, Ines Mekota, Sanja Novak, Tihomir Pavlović, Ivana Žugčić
- P26 VALIDACIJA AUTOMATSKE METODE ZA SEDIMENTACIJU ERITROCITA
Ana Dreznjak, Diana Jelčić, Daniela Domic Šupe, Tanja Šimleša
- P27 BROJ TROMBOCITA KAO PROGNOŠTIČKI ČIMBENIK U BOLESNIKA S METASTATSKIM KARCINOMOM DEBELOG CRIJEVA
Dijana Varganović, Mirela Florijančić, Josipa Flam

- P28 USPOREDBA AUTOMATIZIRANE METODE ZA BRZINU SEDIMENTACIJE (ESR) S WESTERGREN METODOM
Sonja Prisuda, Vesna Kuić-Vadlja, Sanela Petrović, Jasna Štanfel
- P29 SNIŽENA AKTIVNOST GLUKOZA -6-FOSFAT DEHIDROGENAZE KAO UZROK NOVOROĐENAČKE HEMOLITIČKE ANEMIJE - PRIKAZ SLUČAJA
Sanela Petrović, Vesna Kuić-Vadlja, Sonja Prisuda, Jasna Štanfel
- P30 PROTOČNA CITOMETRIJA U DIJAGNOSTICI SARKOIDOZE
Mladenka Hrkać, Maja Rupčić
- P31 ZNAČENJE ODREĐIVANJA KONCENTRACIJE PREALBUMINA U DIJALIZIRANIH BOLESNIKA
Željko Lončar, Maja Štimac
- P32 ODREĐIVANJE FIBRINOGENA KOD BOLESNIKA OBOLJELIH OD TUMORA
Nikolina Babić, Zoran Ivezić, Ana Kvesić

16:00-16:30

**MOLEKULARNA DIJAGNOSTIKA I I INOVATIVNE TEHNOLOGIJE U
LABORATORIJSKOJ MEDICINI/MOLECULAR DIAGNOSTICS AND INNOVATIVE
TECHNOLOGIES IN LABORATORY MEDICINE**

Dvorana/Hall Zrinski

- P33 ULOGA GENOTIPIZACIJE DPYD U ONKOLOŠKIH PACIJENATA
Maja Mezak Herceg, Zrinka Mirković, Lana Ganoci, Livija Šimičević
- P34 DOKAZIVANJE VIRUSNIH UZROČNIKA RESPIRATORNIH INFEKCIJA GORNJEG I DONJEG DIŠNOG SUSTAVA PCR METODOM U DBS
Natalija Milec, Darija Vrzić, Željka Tomas, Tea Duvančić, Vesna Kušec
- P35 POVEZANOST ABO SUSTAVA KRVNIH GRUPA S TEŽINOM KLINIČKE SLIKE I ISHODOM BOLESTI KOD INFEKCIJE SARS-COV-2
Mirna Glegj, Nenad Nešković, Ivana Haršanji Drenjančević, Dario Sabadi, Anđelka Bugarin, Saška Marczy, Marina Samardžija, Mirjana Suver Stević
- P36 MOLEKULARNA DIJAGNOSTIKA Ph NEGATIVNIH MIJELOPROLIFERATIVNIH NEOPLAZMI
Jadranka Jerković, **Željka Vujin**, Marijana Jurak, Katja Puljčan
- P37 TERMINALNI 6q27 MIKRODELECIJSKI SINDROM U NEURORAZVOJNOM POREMEĆAJU: PRIKAZ SLUČAJA
Ana Juras, Ivanka Mikulić, Marija Gavran, Sanda Huljev Frković, Kristina Crkvenac Gornik
- P38 ANALYSIS OF EXPRESSION OF LNCRNA ANRIL AND PVT1 IN PERIPHERAL CIRCULATION OF PATIENTS WITH CALCIFYING AORTIC VALVE STENOSIS
Jasenka Grgurić, Frane Paić
- P39 INFEKCIJA VIRUSOM SARS CoV-2 DJECE S AKUTNIM RESPIRATORNIM SIMPTOMIMA
Anica Džajić, Zoran Barušić
- P40 PREVALENCIJA SARS-CoV-2 VARIJANTI
Eleonora Lozić, Ivan Žuljević-Mikas
- P41 USPOREDBA UČESTALOSTI INFEKCIJE BAKTERIJAMA *CHLAMYDIA TRACHOMATIS* I *NEISSERIA GONORRHOEAE* IZ RAZLIČITIH BIOLOŠKIH UZORAKA KOD MUŠKARACA
Valentina Đurek
- P42 ODREĐIVANJE POLIMORFIZAMA *CYP P450* GENA U METABOLIZMU KANABIDIOLA
Nina Kalajžić, Ana Batinić, Sendi Kuret, Davorka Sutlović

12:10-12:30	
MIKROBIOLOGIJA S PARAZITOLOGIJOM/MICROBIOLOGY WITH PARASITOLOGY	
Dvorana/Hall Lobby	
P43	PRIMJENA MALDI-TOF MS U IDENTIFIKACIJI KVASACA RODA CANDIDA Neno Petrić , Manda Markanović, Danijela Strnad, Lidija Đurić, Kristina Rogalo, Amalija Lukić, Sanja Pleško
P44	CLINICAL IMPACT OF MALDI-TOF MASS SPECTROMETRY IDENTIFICATION OF NONTUBERCULOUS MYCOBACTERIA Manda Markanović , Mateja Janković Makek, Goran Glodić, Tomislav Kuliš, Ivana Mareković
P45	RESPIRATORY SYNCYTIAL VIRUS DETECTION DURING THE COVID-19 PANDEMIC 2020-2022: EXPERIENCE OF CROATIAN INSTITUTE OF PUBLIC HEALTH Bojana Bocka , Ana Martinović, Ivana Ferenčak, Tian Košar, Dominik Ljubas, Ema Imbrija, Irena Tabain
P46	<i>IN VITRO</i> ACTIVITY OF ERAVACYCLINE ON CARBAPENEM-RESISTANT ENTEROBACTERIALES Ivana Jurić , Zrinka Bošnjak, Mario Ćorić, Joško Lešin, Ivana Mareković
12:10-12:45	
PATOLOGIJA I CITOLOGIJA/PATHOLOGY AND CYTOLOGY	
Dvorana/Hall Zrinski	
P47	TARGET EVALUATION IN TRANSLATIONAL PATHOLOGY Mirela Janjić , Ana Peris, Ana Bosak, Gordana Jelić, Nora Pacenti, Davorka Burić, Andrea Paravić Radičević, Anja Ognjenović, Sonja Vidović Iviš, Vuk Milutinović, Božana Maleta
P48	DVOSTRUKO IMUNOHISTOKEMIJSKO BOJANJE p63/AMACR u PATOHISTOLOŠKOJ OBRADI TKIVA PROSTATE UZETOG IGLONOM BIOPSIJOM Martina Abramović , Anita Breški, Ivana Ščrbak, Ljiljana Ratkajec, Lucija Leovac, Sara Hrg, Stela Bulimbašić
P49	PRIKAZ SLUČAJA: FOLIKULARNI KARCINOM ŠTITNJAČE S METASTAZAMA Ivana Lazar , Ivanka Vidić Paulišić
P50	HISTOKEMIJSKE I IMUNOHISTOKEMIJSKE METODE U DIJAGNOSTICIRANJU KARCINOMA PROSTATE Maja Horvat , Božo Krušlin, Monika Ulamec, Zvonka Bogović
P51	PRIPREMA UZORKA BIOPTATA MIŠIĆA ZA PATOHISTOLOŠKU OBRADU: OD HISTOKEMIJE I IMUNOHISTOKEMIJE DO ELEKTRONSKE MIKROSKOPIJE Petra Posavec , Danijela Pavlović, Ozrenka Poljak, Danijela Marić, Andreja Tarle, Katarina Ražnjević, Antonia Jakovčević
P52	RAZLIKE U CITOMORFOLOGIJI <i>PNEUMOCYSTIS JIROVECI</i> U UZORKU BRONHOALVEOLARNOG LAVATA OVISNO O VRSTI BOJENJA Marijana Vranjković , Lucija Milutin, Ana-Marija Krupec, Snježana Šušćević-Medved, Suzana Harabajs, Vesna Šimić, Božica Vrabc Branica, Silvana Smojver-Ježek
P53	VERIFIKACIJA I UVOĐENJE U RUTINSKI RAD CITOLOŠKOG LABORATORIJA NOVOG KOMPLETA REAGENASA ZA DETEKCIJU AKTIVNOSTI ALKALNE FOSFATAZE Ivana Barać , Martina Bogdan Pleština

- P53 CITOLOGIJA GASTROINTESTINALNOG SUSTAVA
Jelena Plazibat, Gordana Naglič, Marija Manestar-Marčelja, Robert Meandžija, Irena Seili-Bekafigo, Koraljka Rajković Molek
- P54 ODRŽIVOST I DJELOTVORNOST HISTOKEMIJSKIH METODA U USPOREDBI S
 IMUNOHISTOKEMIJSKIM METODAMA KOD DOKAZIVANJA *HELICOBACTER PYLORI*
Zvonka Bogović, Maja Horvat, Monika Ulamec, Alma Demirović

12:30-12:45 **SLOBODNE TEME/FREE TOPICS**
Dvorana/Hall Lobby

- P55 PRIPREMA PACIJENTA I UZORKOVANJE KRVI ZA LABORATORIJSKE PRETRAGE
Branka Skoko, Judith Assoll Mirochnitchenko, Gordana Juričić
- P56 PRIMJENA e-UPUTNICA U LABORATORIJSKOJ PRAKSI
Katarina Vrdoljak, Valerija Frigo
- P57 OSTANAK ZDRAVSTVENIH RADNIKA U RH
Ivana Mihaljević

Sadržaj sažetaka u ovoj KNJIZI SAŽETAKA isključiva je odgovornost autora. Izdavač nije odgovoran za upotrebu podataka objavljenih u sažetcima, pravopisne i druge greške.

All pieces of information provided in this BOOK OF ABSTRACTS are the sole responsibility of the authors of the abstracts. Publishers are not responsible for any use that might be made of the data appearing in this document. Also, publishers shall not be liable for any errors that are found in the works of authors.

**SAŽETCI
PLENARNIH
PREDAVANJA
/ PLENARY
LECTURE
ABSTRACTS**

FROM BENCH TO BEDSIDE: TRANSLATING SCIENCE FROM THE LAB TO CLINICAL PRACTICE

Dragan Primorac

Penn State University
University of New Haven
Xi'an Jiaotong University
College of Medicine and Forensics
Medicinski fakultet Sveučilišta u Splitu
Medicinski fakultet Sveučilišta u Osijeku
Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci
draganprimorac2@gmail.com

STEATOZA I TRANSPLANTACIJA JETRE

Nela Sršen

Sveučilišna bolnica u Padovi
consolatocro.pd@libero.it

STORY OF A PANDEMIC: THE LESSONS WE HAVE LEARNED

Giorgio Palu

School of Medicine, Department of Molecular Medicine, University of Padova, Italy
giorgio.palu@unipd.it

The lecture will deal with the origin and evolution of SARS-CoV-2 going into details about the influence of the environment on some of the virus genetic traits. Focus will be also on the mechanisms of viral pathogenesis and on the virus-host interactions relevant to the main features of the pandemic. Activity and efficacy of vaccines and antiviral drugs will be commented with a prospect to future means of prevention and therapy.

**SAŽETCI
POZVANIH
PREDAVANJA
/ INVITED
LECTURE
ABSTRACTS**

INTERNATIONAL FEDERATION OF BIOMEDICAL LABORATORY SCIENCE - THE IMPORTANCE OF MEMBERSHIP

MIRJANA STUPNIŠEK

International Federation of Biomedical Laboratory Science, Croatia
stupnisek.mefos@gmail.com

The International Federation of Biomedical Laboratory Science (IFBLS) is an independent non-governmental association of national societies in 34 countries, representing more than 270.000 Biomedical Laboratory Scientists worldwide. IFBLS (established in 1954 as the International Association of Medical Laboratory Technologists - IAMLT) is the world's widest reaching international organization for Biomedical Laboratory Scientists, bringing the profession, the professionals and health priorities to the world stage. With increased opportunities for easy communication across borders and continents, IFBLS has exciting possibilities to continue to develop and grow. IFBLS collaborates with numerous organizations for mutual benefits, e.g. World Health Organization (WHO), Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), European Association for Professions in Biomedical Science (EPBS), International Federation of Biosafety Associations (IFBA), International Standard Classification of Occupations (ISCO), International Organization for Standardization (ISO). The Objectives of IFBLS are: 1. To support, advance and promote good scientific laboratory practice through the development and adherence to high quality standards in diverse environments throughout the world; 2. To support and promote education and advancement of science and technology in the professional development of Biomedical Laboratory Scientists; 3. To support, advance and promote ethical and professional values in Biomedical Laboratory Science; 4. To facilitate the exchange of ideas through development of partnerships within the global healthcare community. IFBLS Mission Statement: To increase recognition and contributions of Biomedical Laboratory Science to improve global health. The most important activities related to education and professional development of Biomedical Laboratory Science professionals are: develop and enhance publication of the International Journal of Biomedical Laboratory Science (IJBLS), present and develop E-learning, develop the Britta Karlsson Educational Webinar Series for the benefit of member associations, revise and update the International Directory of Biomedical Laboratory Science Educations database (IDBLSE), support and promote BLS Day (15th of April, every year, current theme is Guardians of Quality and Patient Safety: Biomedical Laboratory Scientists), work with WHO to promote Biomedical Laboratory Scientists' professional expertise and global contributions, work towards ISCO recognition, review Core Competencies and Core Curriculum Guidelines. IFBLS Position Paper on the Role of Biomedical Laboratory Scientist in the Delivery of Quality Healthcare and IFBLS Guidelines for Core Competence were adopted at the last General Assembly of Delegates (GAD) in 2022. Only through hard work with assistance from our members, we can continue to strengthen our position as the Global Voice of Biomedical Laboratory Scientists. Let's work together!

KEY WORDS

Biomedical Laboratory Science professionals; IFBLS; membership

THE VITAL ROLE OF BIOMEDICAL SCIENTISTS IN EUROPE AND CROATIA FOR A HEARTY HEALTH CARE SYSTEM

FERNANDO MENDES

European Association of Biomedical Scientists
president@epbs.net

ORGANIZACIJA, ULOGA I VAŽNOST IMUNOGENETIKE U DIJAGNOSTICI BOLESTI I TRANSPLANTACIJSKOJ MEDICINI

RENATA ŽUNEC¹

¹ Odjel za tipizaciju tkiva, Klinički zavod za transfuzijsku medicinu i transplantacijsku biologiju, KBC Zagreb, Zagreb, Hrvatska
rzunec@kbc-zagreb.hr

Imunogenetika kao interdisciplinarna znanost proučava ulogu gena glavnog sustava tkivne podudarnosti u čovjeka-sustava HLA (engl. Human Leucocyte Antigen) u imunološkom odgovoru. Pretrage iz područja imunogenetike u laboratorijskoj djelatnosti nazivaju se tipizacija tkiva (engl. Tissue Typing) odražavajući činjenicu da se antigeni HLA kao produkti gena sustava HLA nalaze na površini stanica svih tkiva predstavljajući tako genetsku osobnu iskaznicu svakog čovjeka. Područje primjene tipizacije tkiva u kliničkoj medicini obuhvaća široki raspon od dijagnostike bolesti (poglavito autoimunih), transplantacije solidnih organa, transplantacije krvotvornih matičnih stanica, transfuzijske medicine pa do u novije vrijeme sve više i farmakogenetike. Pretrage obuhvaćaju određivanje polimorfizama antigena i gena HLA, određivanje prisutnosti i specifičnosti antitijela HLA, određivanje kimerizma, određivanje polimorfizama gena non-HLA (geni *KIR*, geni *MIC*) te određivanje prisutnosti i specifičnosti antitijela non-HLA s ulogom u transplantaciji tkiva i organa. Metode koje se koriste su serološke metode testa limfocitotoksičnosti posredovanog kompleksom, molekularne metode lančane reakcije polimerazom s korištenjem početnica ili oligonukleotidnih proba specifičnih za sekvence HLA, Sangerova metoda sekvenciranja i metoda sekvenciranja nove generacije, ELISA testovi, protočna citometrija te Luminex tehnologija.

Odjel za tipizaciju tkiva KBC Zagreb najveći je centar za tipizaciju tkiva u Republici Hrvatskoj koji je 2007. godine akreditiranjem od strane Evropske federacije za imunogenetiku (EFI) postao prvi medicinski laboratorij u Republici Hrvatskoj s evropskom akreditacijom. Time je bio ispunjen i jedan od osnovnih uvjeta za članstvo Republike Hrvatske u Eurotransplantu, najvećoj evropskoj organizaciji za razmjenu solidnih organa kao i za rad Hrvatskog Registra (CBMDR-Croatian Bone Marrow Donor Registry) unutar Svjetskog registra dobrovoljnih darivatelja krvotvornih matičnih stanica (WMDA-World Marrow Donor Association).

Imunogenetika kao znanost i tipizacija tkiva kao medicinsko laboratorijska djelatnost nezaobilazni su čimbenici u brojnim područjima kliničke medicine, ali i u populacijskim istraživanjima polimorfizama gena sustava HLA, kojima se u okviru međunarodnih studija određuju sličnosti, različitosti i jedinstvenosti pojedinih populacija. Tako je u Odjelu za tipizaciju HLA do danas otkriveno 28 novih gena HLA u hrvatskoj populaciji te su svi potvrđeni i prijavljeni u svjetsku bazu gena HLA (IMGT - International immunogenetics information system).

Imunogenetika je znanost bogate prošlosti, uzbudljive sadašnjosti i zasigurno vrlo zanimljive budućnosti. Budućnost imunogenetike će pratiti razvoj novih metodologija, razvoj umjetne inteligencije, ali najvažnije od svega, baš kao i u prošlosti i u sadašnjosti, pratit će ju znanje, rad i veliki entuzijizam svih djelatnika kojima je tipizacija tkiva radno mjesto, zvanje i životni poziv.

PRAĆENJE KIMERIZMA NAKON TRANSPLANTACIJE KRVOTVORNIH MATIČNIH STANICA

KATARINA ŠTINGL JANKOVIĆ

KBC Zagreb
kstingl@kbc-zagreb.hr

OGRANIČAVAJUĆI FAKTORI U ALOGENIČNOJ TRANSPLANTACIJI KRVOTOVORNIH MATIČNIH STANICA

ESMA ČEČUK-JELIČIĆ^{1,2}

¹ Laboratorij za tipizaciju tkiva, Zavod za transfuzijsku medicinu, Klinički bolnički centar Split

² Sveučilišni odjel zdravstvenih studija, Sveučilište u Splitu

esma.cecuk@gmail.com

Transplantacija koštane srži (TKS) je terapijska metoda kojom se manje vrijedne i bolesne krvotvorne matične stanice zamjenjuju zdravim. Krvotvorne matične stanice su nezrele stanice smještene u koštanoj srži. Njihova osnovna funkcija je stvaranje zrelih stanica krvotvornog sustava. U liječenju transplantacijom rutinski se primjenjuju alogenična i autologna transplantacija. Alogenična transplantacija krvotvornih matičnih stanica (TKMS) jedan je od standardnih terapijskih postupaka u liječenju leukemija, limfoma i ostalih bolesti krvotvornog sustava, a u posljednje vrijeme i u liječenju autoimunih bolesti, nasljednih metaboličkih deficijencija i drugih oboljenja. Ishod TKMS ovisi o nizu različitih genetičkih i kliničkih čimbenika.

Najvažniji genetički čimbenik je stupanj podudarnosti HLA primatelja i davatelja. Poznato je da već razlika u samo jednom alelu HLA i to na razini jedne aminokiseline može pokrenuti aloreaktivnu reakciju limfocita T i odbacivanje transplantata. Zbog izrazitog polimorfizma gena HLA, s više od ukupno 35 000 alela HLA razreda I (HLA-A, -B, -C) i razreda II (HLA-DRB1 i -DQB1), vjerojatnost da će se naći identični srodnik unutar obitelji je svega 30%. U slučaju kada u obitelji nema genotipski identičnog srodnika, odlučuje se za pronalaženje odgovarajućeg davatelja u svjetskim registrima.

Pronalaženje odgovarajućeg davatelja olakšano je uključivanjem sve većeg broja nacionalnih registara u svjetski registar dobrovoljnih davatelja KMS (engl. World Marrow Donors Association, WMDA) koji u svojoj bazi ima preko 40 milijuna HLA tipiziranih davatelja iz 139 registara, iz 57 zemalja. Dio WMDA-a je i Hrvatski registar dobrovoljnih davatelja KMS (RDDKMS) s 63024 nesrodnih dobrovoljnih davatelja što značajno povećava vjerojatnost bolesnicima za pronalazak odgovarajućeg davatelja. Hrvatski registar KMS osnovan je 1996. Godine pri Zavodu za tipizaciju tkiva Klinike za urologiju KBC Zagreb, a osnivanjem i uključivanjem Zaklade Ana Rukavina u rad registra broj dobrovoljnih darivatelja se znatno povećao.

Današnje metode molekularne biologije omogućavaju kako rutinsko određivanje polimorfizama na razini genskih skupina (tipizacija niskog razlučivanja, HLA-A*02) tako i na razini alela pojedinih gena (tipizacija visokog razlučivanja, HLA-A*02:01, A*02:02). Za određivanje alela sustava HLA koriste se najnovije metode molekularne biologije kao što su lančane reakcije polimerazom i početnicama sa sekvencama specifičnim za alele sustava HLA (engl. *Polymerase Chain Reaction - Sequence Specific Primers, PCR-SSP*), lančane reakcije polimerazom i oligonukleotidima sa sekvencama specifičnim za genske skupine HLA (engl. *Polymerase Chain Reaction - Sequence-Specific Oligonucleotides, PCR-SSO*) i metode sekvenciranja sljedeće generacije (engl. *Next generation sequencing, NGS*).

Budimo svjesni da se bolest ne događa samo drugima, pogotovo ako govorimo o teškim hematološkim bolestima, razvijmo svoju svijest i ne budimo samo promatrači koji pitaju „Zašto?“ nego sudjelujmo i pitajmo se „Zašto ne?“.

KLJUČNE RIJEČI

matične stanice; alogenična transplantacija; registar darivatelja krvotvornih matičnih stanica; HLA tipizacija

SUVREMENA LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA

HEMOGLOBINOPATIJA

DANICA MATIŠIĆ¹, Dragana Šegulja²

¹ Poliklinika Salzer, Zagreb, Hrvatska

² Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku, KBC Zagreb, Zagreb, Hrvatska

danica.maticic@gmail.com

Hemoglobin je hemoprotein koji se nalazi u eritrocitima, a svaki eritrocit sadrži oko 280 milijuna molekula hemoglobina. Osim puferskog djelovanja u acidobaznoj ravnoteži glavna uloga hemoglobina je ponajprije prenošenje O₂ iz pluća u tkiva kao i prenošenje CO₂ iz tkiva u pluća. Hemoproteini su od životne važnosti jer inhibicija prijenosa O₂ hemoglobinom ugljikovim monoksidom ili inhibicija citokroma cijanidom dovodi do smrti. Poremećaje građe ili funkcije hemoglobina nazivamo hemoglobinopatije. Mogu biti stečene ili naslijeđene. Stečene hemoglobinopatije nastaju zbog oštećenja funkcije hemoglobina izvanjskim čimbenicima kao što su ugljikov monoksid ili oksidirajući spojevi čije djelovanje dovodi do nastanka nefunkcionalnih derivata hemoglobina (karboksihemoglobina ili methemoglobina).

Nasljedne hemoglobinopatije nastaju zbog poremećaja sinteze globina, dok hem kao neproteinski dio hemoglobina, ostaje nepromijenjen. Ubrajaju se u najčešće nasljedne poremećaje uopće – 7% nosioca u svjetskoj populaciji. Iako je njihova pojavnost povezana s geografskom pripadnošću, kao posljedica globalnih migracija stanovništva sve češće se nalaze i u „netipičnim“ zemljama pa tako i u Republici Hrvatskoj. Ovisno o vrsti poremećaja, nasljedne hemoglobinopatije se mogu podijeliti u tri skupine: 1. kvantitativni poremećaji ili talasemije (smanjena ili izostala sinteza jednog ili više strukturno normalnih globinskih lanaca), 2. kvalitativni poremećaji ili strukturne varijante hemoglobina i 3. poremećaji nastali zbog zatajivanja mehanizama prijelaza sinteze fetalnog u adultni hemoglobin (nasljedna perzistentna sinteza fetalnog hemoglobina). Indikacije za pretraživanje na hemoglobinopatije jesu: mikrocitna hipokromna anemija, kronična hemolitička anemija, anemija inducirana lijekovima, eritrocitoza i/ili cijanoza uzrokovana hematološkim faktorima, preventivna te prenatalna dijagnostika.

Varijante hemoglobina međusobno se razlikuju u mnogim svojstvima. Tako ih možemo razdvajati prema imunološkim, kristalografskim, spektroskopskim, elektroforetskim svojstvima kao i prema različitom ponašanju s lužinama, različitoj topivosti, afinitetu prema kisiku itd. Suvremena laboratorijska dijagnostika hemoglobinopatija uz standardne pretrage kao što su kompletna krvna slika, laktat dehidrogenaza i haptoglobin najčešće obuhvaća razdvajanje varijanti hemoglobina na temelju elektroforetskih svojstava koristeći kapilarnu zonsku elektroforezu. Primjenom ove tehnologije nabijene čestice kreću se u tekućem mediju, puferu, pod utjecajem električnog polja u smjeru anoda-katoda. Za razdvajanje pojedinih ionskih vrsta prema njihovom naboju koristi se snaga elektroosmotskog toka koji je snažniji od elektroforetskog. Hemolizati eritrocita automatski se priređuju u samom analizatoru. Nakon toga uzorci budu aspirirani u kapilaru gdje se elektroforetski razdvoje varijante uz visoki napon od 9600 V. Nakon završenoga elektroforetskog razdvajanja moguće je s dovoljnom osjetljivošću i visokom rezolucijskom moći detektirati i relativno kvantificirati mnogobrojne varijante hemoglobina.

KLJUČNE RIJEČI

hemoglobin, hemoglobinopatija, talasemija, kapilarna elektroforeza

LABORATORIJSKA ENDOKRINOLOGIJA - RAZUMIJEVANJE OGRANIČENJA MJERNIH METODA

VESNA KUŠEC

Dječja bolnica Srebrnjak, Zagreb, Hrvatska
kusec958@gmail.com

UVOD

Laboratorijske pretrage suvremene medicine omogućuju brzi rezultat, uz jednostavnu tehnologiju i pristupačni trošak. Dostupnost i široka primjena metoda mjerenja hormona na temelju liganda ("imunoesej") je također ukazala na postojanje analitičkih problema, razlika između rezultata različitih proizvođača i laboratorija, te posljedičnim poteškoćama u usporedbi nalaza iz različitih laboratorija i ishodom na kvalitetu zdravstvene skrbi. Međunarodna stručna društva su udružila napore za usklađivanje mjernih metoda i definiranje preporučene metode, oblik hormona u cirkulaciji koji je od dijagnostičke važnosti, referentni materijal (standard) za kalibraciju i osobitosti referentne populacije za izradu referentnih intervala. Masena spektrometrija je najčešće preporučena metoda, ali metode koje su temeljene na "imunoeseju" potrebno je kalibrirati prema referentnoj metodi i referentnom materijalu za postizanje bolje pouzdanosti rezultata.

CILJ

U predavanju će biti prikazani najčešći izvori nepouzdanosti rezultata i ograničenja mjernih metoda, a koji su uzrokom nepodudarnosti rezultata laboratorijske pretrage i kliničke slike.

MATERIJALI I METODE

Pregledom relevantnih literaturnih navoda su nađeni podaci o izvorima nesukladnosti rezultata endokrinoloških laboratorijskih pretraga i kliničke slike, odn. o dokazima ograničenja, križnih reakcija u analizi i nestabilnosti analita.

REZULTATI I ZAKLJUČAK

Za uočene nesukladnosti odn. neočekivani rezultat endokrinološke pretrage potrebno je poznavanje mogućih uzroka, a za neke su moguća rješenja u laboratorijskom radu. Ova saznanja su neophodna u svakodnevnom radu u endokrinološkom laboratoriju radi sigurnosti pacijenta i optimalne suradnje svih sudionika u zdravstvenoj skrbi. Mogućnosti u budućnosti hormonske laboratorijske dijagnostike proizlaze iz poboljšanje dostupnosti masene spektrometrije u rutinskoj praksi, a koja omogućava bolju točnost i preciznost rezultata u endokrinologiji. Također se može predvidjeti dijagnostika uz bolesnika (point-of-care) za hormone u uvjetima liječničke ordinacije, na terenu ili u kiruškom liječenju endokrinoloških bolesti. Prepoznavanje ograničenja standardnih mjernih metoda je također uvrstila "problem metode" ("assay problem") u popis diferencijalnih dijagnoza.

KLJUČNE RIJEČI

laboratorijska endokrinologija, hormoni, mjerne metode

HEMATOLOŠKA OBRADA AKUTNIH LEUKEMIJA- SADAŠNJOST I BUDUĆNOST

SANELA HAJRO, Melina Drljo

Klinički centar Univerziteta u Sarajevu, Sarajevo, Bosna i Hercegovina
hajro.sanela@gmail.com

UVOD

Akutna leukemija je rezultat niza mutacijskih događaja, koji nastaju tokom složenog procesa hematopoeze. Akutne leukemije nastaju kao posljedica nekontroliranog razmnožavanja i nagomilavanja mladih „blastnih“ stanica u koštanoj srži, krvi, limfnim i drugim tkivima. Leukemije čine približno 10% svih malignih oboljenja. U dijagnostičkom algoritmu. Primarno se određuje KKS-kompletna krvna slika sa DKS-diferencijalna krvna slika. Zatim, leukogram (omjer razvojnih oblika bijelih krvnih stanica), periferni razmaz krvi, optička DKS. Treći korak hematološke obrade po proceduri obuhvata citološku analizu aspirata koštane srži, (mijelogram-broj stanica sa jedrom u koštanoj srži) citohemijska bojenja (periodic acid schiff reakcija –PAS, mijeloperoksidaza-POX i alfa naftil-acetat esteraza-ANAE), imunofenotipizaciju, protočnu citofluorimetriju, metode citogenetike i molekularne analize (PCR, FISH). Za hematološku obradu i dijagnozu akutnih leukemija koristi se standardna laboratorijska dijagnostika prema ESMO (European Society for Medical Oncology) i NCCN (National Comprehensive Cancer Network) smjernicama.

CILJ

- Na osnovu laboratorijske analize KKS uraditi pregled perifernog razmaza i ustanoviti prisustvo blasta i mladjih razvojnih oblika, a koji ukazuju na suspektu akutnu leukemiju.
- Nakon pregleda razmaza koštane srži, očitavanje preparata omogućava određivanje tipa i pravca diferenciranja stanica, te su dopuna i pojašnjenje morfološke analize.
- Ustanoviti pouzdanost primjene standardnih citohemijskih analiza.
- Interpretirati rezultate protočne citofluorimetrije, i obrazložiti zaokruženi dijagnostički algoritam.

MATERIJALI I METODE

Uzorci krvi dobiveni venepunkcijom, epruvete s antikoagulanansom K_3 ETDA. Određivanje KKS sa DKS-om na automatskom brojaču krvnih elemenata. Optički princip provodljivosti (VCS tehnologija) i analiza stanica na osnovu električne provodljivosti i protočna citofluorimetrija. Isti uzorci se koriste za pravljenje perifernih razmaza, bojenje metodom May-Grünwald-Giemsa (MGG). Uzorci koštane srži korišteni za mijelogram, za citokemijska bojenja, protočnu citofluorimetriju i citogenetiku,, dobiveni su aspiracijskom punkcijom sternuma ili ilijačne kosti. (iz aspiracijske igle, prenose se na satno staklo, sa stakla u vakutajner epruvetu sa navedenim antikoagulanansom). Metoda za bojanje razmaza koštane srži- mijelograma, takodje po MGG-u. Citokemijska bojenja – set čine POX, PAS i ANAE.

REZULTATI I ZAKLJUČAK

S provedenim istraživanjem, nakon kompletne hematološke obrade, nastojimo dokazati, njihovu apsolutnu pouzdanost i opravdanost u cilju potvrde suspektne uputne dijagnoze kod akutnih leukemija. Važno je naglasiti da pozitivna reakcija omogućava prepoznavanje ćelija, dok negativna reakcija ne isključuje određenu ćelijsku lozu. Specifičnost nije apsolutna, tako da se mogu javiti unakrsne reakcije.

Citomorfološka analiza razmaza periferne krvi i aspirata koštane srži, prema kriterijima postavljenim u klasifikaciji Svjetske zdravstvene organizacije (SZO), temeljni je dijagnostički pristup za postavljanje dijagnoze akutnih leukemija. Osim broja stanica i morfoloških značajki blasta, konačna dijagnoza postavlja se uz nalaze imunofenotipizacije, citogenetike i molekularne dijagnostike. To je sadašnji dijagnostički algoritam. Budućnost za što raniju dijagnostičku potvrdu akutnih leukemija je u citogenetici i molekularnim analizama, koje otkrivaju specifične promjene na molekularnoj razini radi kojih je došlo do hematopoezne proliferacije. Zbog fleksibilnost savremenih molekularno-genetičkih metoda omogućeno je korištenje gotovo svakog mutiranog gena kao markera za predviđanje relapsa, ali i predstavljanje dodatnih informacija u predviđanju uspješnosti transplantacije i postransplantacijskog ishoda. U narednom periodu potrebno je

više pažnje posvetiti sekvenciranju gena i omogućiti da svi veći zdravstveni centri imaju navedeni pristup zbog uočene geografske i etničke heterogenosti što će omogućiti razvoj precizne medicine za pacijente sa akutnom leukemijom. Primjena morfološke, imunofenotipske, citogenetičke i molekularne analize mora se racionalizirati kao dijagnostički integrirani pristup u budućnosti.

KLJUČNE RIJEČI

hematološka obrada, akutna leukemija, periferni razmazi, mijelogrami, citohemijska bojenja, protočna citofluorimetrija

(1) Heuser M et al. ESMO Guidelines Committee. Electronic address: clinicalguidelines@esmo.org. Acute myeloid leukaemia in adult patients: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol.* 2020 Jun;31(6):697-712. Erratum in: *Ann Oncol.* 2021 Jun;32(6):821. (2) Pollyea DA et al. NCCN Guidelines Insights: Acute Myeloid Leukemia, Version 2.2021. *J Natl Compr Canc Netw.* 2021 Jan 6;19(1):16-27. doi: 10.6004/jnccn.2021.0002.

miRNA DRIVEN MOLECULAR PROFILE OF PAINFUL NEUROPATHIES: INNOVATIVE TISSUE REAPPRAISAL FOR TAILORED THERAPIES

MIRNA ANĐELIĆ^{1,2}, Erika Salvi¹, Stefania Marcuzzo³, Margherita Marchi¹, Raffaella Lombardi¹, Daniele Cartelli¹, Daniele Cazzato⁴, Elkadia Mehmeti¹, Andrea Gelemanović⁵, Matilde Paolini¹, Carlotta Pardo¹, Ilaria D'Amato¹, Janneke G.J. Hoeijmakers², Sulayman Dib-Hajj⁶, Stephen G. Waxman⁶, Catharina G. Faber², Giuseppe Lauria^{1,7*}

¹ Neuroalgology Unit, Fondazione IRCCS Istituto Neurologico Carlo Besta, Milan, Italy.

² Department of Neurology, School of Mental Health and Neuroscience, Maastricht University Medical Center+, Maastricht, The Netherlands.

³ Neuroimmunology and Neuromuscular Diseases Unit, Fondazione IRCCS Istituto Neurologico Carlo Besta, Milan, Italy.

⁴ Neurophysiology Unit, Fondazione IRCCS Istituto Neurologico Carlo Besta, Milan, Italy.

⁵ Mediterranean Institute for Life Sciences (MedILS), 21000 Split, Croatia.

⁶ Department of Neurology, Yale University School of Medicine, New Haven, Connecticut.

⁷ Department of Medical Biotechnology and Translational Medicine, University of Milan, Milan, Italy.

mirna.andelic@istituto-besta.it

INTRODUCTION

Painful neuropathies, although characterized by different etiologies and clinical symptoms, share the involvement of small nerve fibers and epidermal cells. Even though many underlying pathophysiological mechanisms have been elucidated, pharmacological treatments remain limited, focused solely to treating symptoms and widely inefficient. The common belief is that translational gap could be bridged by joint clinical and molecular-based patient characterization. To that aim, we defined microRNA profiles associated with well characterized patient group, that could serve as potential biomarkers.

METHODS

Utilizing microfluidic array for unbiased miRNA and customized pain-gene array for mRNA profiling, we generated a human pain-related integrative miRNA and mRNA molecular profile of the epidermis in a deeply phenotyped cohort of patients with Nav1.7-related painful neuropathy not responding to currently available therapies, and sex and age matched healthy individuals. Gene targets, biological processes and pathways were identified *in silico*, and associated with experimental data to construct integrative functional network. To study the impact on protein expression, we performed immunofluorescence staining against Nav1.7 in skin biopsy specimens.

RESULTS

We identified four miRNAs strongly discriminating patients from healthy individuals, confirming their effect on differentially expressed gene-targets driving peripheral sensory transduction, transmission modulation and post-transcriptional modification, with strong effects on gene-target *NEDD4*, which is known for its effect on Nav1.7 expression and neuronal growth and excitability. We identified a complex epidermal miRNA-mRNA network based on tissue-specific experimental data, supporting the hypothesis of the epidermis as a polymodal nociceptor. Immunofluorescence staining showed increased Nav1.7 signal intensity in keratinocytes in patients, that strongly inversely correlated with *NEDD4* and identified miRNA expression, suggesting post-transcriptional fine tuning of pain-related protein expression.

CONCLUSION

Our targeted molecular profiling advances the understanding of specific neuropathic pain signatures and may accelerate process towards personalized medicine by providing endotype-specific biomarkers and potential druggable targets.

RNA-Seq ANALYSIS OF TCR REPERTOIRE IN FLOW SORTED MAIT AND $\gamma\delta$ T CELLS OF PSORIASIS VULGARIS PATIENTS

MAJA JIROUŠ¹, Kristina Glavaš², Vera Plužarić², Barbara Viljetić¹, Teuta Opačak-Bernardi¹, Marija Šola², Maja Tolušić Levak², Mario Štefanić¹, Ljubica Glavaš-Obrovac¹, Stana Tokić¹

¹ Faculty of Medicine Osijek, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Croatia

² Osijek Clinical Hospital Centre, Osijek, Croatia

mjirous@mefos.hr

INTRODUCTION

Psoriasis vulgaris (PV) is an autoinflammatory skin disease characterized by T cell-mediated inflammation. The pathogenic role of unconventional T cells, including $\alpha\beta$ mucosal-associated invariant T (MAIT) cells and $\gamma\delta$ T lymphocytes in PV is, however, still unclear. RNA-Seq analysis of the α -, β -, γ -, and δ -chain T cell receptor (TCR) repertoire can provide a comprehensive understanding of TCR clonotype diversity, including insight into potentially pathogenic MAIT and $\gamma\delta$ TCR variants of diagnostic and therapeutic relevance.

GOAL

Here, we aimed to investigate the impact of differential RNA input and admixture in RNA-Seq analysis of MAIT and $\gamma\delta$ TCR clonotype diversity.

METHODS

Eight RNA samples from flow-sorted peripheral MAIT and $\gamma\delta$ T cells were used to prepare six mixed (20:80, 25:25, 50:50, 20:20, 30:70, 20:40 ng, MAIT: $\gamma\delta$) and two separate (MAIT or $\gamma\delta$) TRA/TRB/TRG/TRD RNA-Seq libraries (Archer[®] Immunoverse[™] TCR Kit). Sequencing was performed using Illumina Miniseq sequencer, and Archer Analysis Software and VDJTools pipeline were used for TCR repertoire analysis.

RESULTS AND CONCLUSION

As expected, MAIT RNA input correlated well with the number of TRB transcripts ($\rho=0.7475$, $p=0.0330$), and the number of TRG ($\rho=0.9103$, $p=0.0017$) and TRD ($\rho=0.9941$, $p=0.0004$) reads followed an increase in the $\gamma\delta$ T cell RNA input. The appearance of contaminating TCR transcripts (i.e., TRD/TRG in MAIT, i.e., TRA/TRB in $\gamma\delta$ TCR libraries) was observed in all samples, especially in mixed TCR libraries with RNA input > 50 ng. Of interest, TRA and TRB transcripts accounted for 4.71% of the individual $\gamma\delta$ TCR library, while 20.46% of the reads in a single MAIT sample were either TRG or TRD variants. Filtering based on the MAIT-specific TRAV1-2 variant revealed that the majority of TRA transcripts (92.9%) in the $\gamma\delta$ T RNA sample originated from conventional $\alpha\beta$ T cells, highlighting the limitations of used cell sorting procedures. These results demonstrate the necessity of performing separate analysis of MAIT and $\gamma\delta$ TCR libraries in bulk RNA-Seq settings, using limited RNA input. Single-cell RNA-Seq may be a more suited tool in pursuit of disease-relevant TCR clonotypes.

KEY WORDS

MAIT cells, psoriasis vulgaris, RNA-Seq analysis, TCR repertoire, $\gamma\delta$ T Cells

STUDIJSKI PROGRAMI MEDICINSKO-LABORATORIJSKE DIJAGNOSTIKE U REPUBLICI HRVATSKOJ

DAVORKA SUTLOVIĆ

Sveučilište u Splitu, Sveučilišni odjel zdravstvenih studija, Split, Hrvatska
dsutlovic@ozs.unist.hr

Medicinska laboratorijska dijagnostika (MLD, laboratorijska medicina) je zdravstveno i znanstveno područje vezano za medicinske laboratorije različitih specijalnosti i profila u zdravstvenim institucijama i institucijama koje nisu u sustavu zdravstva. Ubrzani razvoj znanosti i primjena novih dijagnostika u medicini, posebice u području laboratorijske biomedicine zahtjeva stalno stručno i znanstveno usavršavanje. Primjenu novih saznanja omogućava stručnjak školovan na razini najnovijih znanstvenih spoznaja i na njima temeljenih vještina, usklađenih s nacionalnim prioritetima profesionalnoga sektora te usporediv s programima EU.

Medicinsko-laboratorijska dijagnostika sastavni je dio i moderne medicine. S obzirom na brz razvoj molekularne medicine, personalizirane medicine, kao i metoda i tehnologija koje se koriste u laboratorijskoj medicini, od ključne je važnosti kontinuirano stručno i znanstveno usavršavanje stručnjaka iz područja medicinsko-laboratorijske djelatnosti. To se postiže obrazovanjem na preddiplomskoj, diplomskoj i poslijediplomskoj razini. U RH postoje studijski programi organizirani na visokim učilištima i sveučilištima na kojima se stječe naziv: stručnog ili sveučilišnog prvostupnika/prvostupnice medicinsko-laboratorijske dijagnostike ili sveučilišni/a magistar/magistra medicinsko laboratorijske dijagnostike, ovisno o razini obrazovanja. Poštujući posebnosti hrvatskog sustava zdravstvenog obrazovanja, program studija usuglašen je i s predstavnicima Hrvatske laboratorijske udruge (HLU), koja je punopravna članica IFBLS (International Federation of Biomedical Laboratory Science), te ima svog predstavnika u Ekspertnoj grupi za edukaciju pri IFBLS. Studijski program u cijelosti podržava i Hrvatska komora zdravstvenih radnika, strukovni razred za medicinsko laboratorijsku djelatnost.

Po završetku studija prvostupnici i magistri medicinsko laboratorijske dijagnostike sposobni su za rad u kliničkim dijagnostičkim laboratorijima zdravstvenih ustanova, biotehnoškim i/ili farmaceutskim kompanijama. Zapošljavanjem visokoobrazovanih stručnjaka, obrazovanih za rad u sustavu zdravstva i zdravstvene zaštite, unaprjeđuje se sustav analize bioloških uzoraka te značajno doprinosi procesu prevencije, otkrivanja i liječenja bolesti. Stečena znanja i vještine omogućavaju magistrima medicinsko laboratorijske dijagnostike aktivno uključivanje u znanstveno-istraživački rad te radom na sveučilištima prenošenje znanja i vještina budućim stručnjacima MLD-a.

Ustanove koje obrazuju medicinske djelatnike na sva četiri državna sveučilišta u Republici Hrvatskoj slijedile su preporučene smjernice i uvele suvremene studijske programe vezano za obrazovanje prvostupnika medicinsko-laboratorijske dijagnostike, kojih nedostaje na tržištu rada. Međutim, iako i prvostupnici i magistri MLD-a posjeduju visoku razinu osposobljenosti, uvijek ima prostora za popravak, napredovanje i usklađenost njihovih studijskih programa, a sve kako bi stručnjaci nakon završetka studija bili u skladu s brzim promjenama i sustigli budućnost u novim tehnologijama.

DIJAGNOSTIČKI STEWARDSHIP U KLINIČKOJ MIKROBIOLOGIJI

ANA BUDIMIR

Klinički bolnički centar Zagreb, Klinički zavod za kliničku mikrobiologiju, prevenciju i kontrolu infekcija,
Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb, Hrvatska
abudimir@kbc-zagreb.hr

Prema WHO: Dijagnostički stewardship se definira kao: – “koordinirano vodstvo i intervencije s ciljem unapređenja odgovarajuće mikrobiološke dijagnostike kojom bi se vodile terapijske odluke”.

Treba bi promovirati adekvatnu, pravodobnu dijagnostiku, uključujući uzimanje uzoraka, identifikaciju patogena i precizno izdavanje rezultata koji će usmjeravati liječenje pacijenta,„

Što se očekuje od mikrobiološkog laboratorija?

Odgovor na 3 pitanja: je li pacijent inficiran? Ukoliko je, koji je patogen u pitanju? I, čime ga učinkovito liječiti? Pravilno primijenjene nove tehnologije mogu brže i točnije voditi do odgovora na ova tri pitanja.

„Mikrobiološki laboratoriji su danas pod velikim pritiskom za izvođenje ekstenzivnih, skupih, klinički irelevantnih testova koji, ukoliko su krivo indicirani mogu navoditi ordinarijusa na krivi trag i neodgovarajuću terapiju “ Clin Microbiol. 2017; 55:715–723 NAATs, Monoplex ili multiplex PCR paneli, Microarray paneli, PNA-FISH , Magnetic Resonance based testing uz rutinsku primjenu MALDI-TOF MS neparednih tehnologija mogu vrlo brzo dati vrlo točne informacije o infekciji.

Cilj upravljanja dijagnostičkim postupcima je: Odabrati pravi test, za pravog pacijenta, dobiti točne, klinički relevantne rezultate u optimalno vrijeme kako bi se pravodobno utjecalo na liječenje/skrb s optimalnim utjecajem na sredstva zdravstvenog sustava.

Prevelika i nepotrebna, nedovoljno precizno inidicirana dijagnostika može odvesti do pre-dijagnosticiranja, lažno pozitivnih rezultata, previše nepotrebnih postupaka liječenja a u svemu se izgubi interes pacijenta. Neodgovarajuća primjena može činiti više štete nego koristi. Zbog toga postoji veća potreba za dijagnostičkim stewardship-om. U odabiru odgovarajućeg testa važnu ulogu ima evaluacija performansi testa– osjetljivost i specifičnost što može biti zahtjevno u odsutnosti “zlatnog standarda”, osobito ukoliko se molekularne metode uspoređuju s konvencionalnim metodama. Primjer za to je detekcija pneumokokne DNA putem multiplex PCR testa u CSF u bolesnika koji već dobiva antibiotik i kultura je negativna.

Važno je određivanje potencijalne „korisnosti” testa, uz korištenje retrospektivnih podataka, predviđeni broj testova-dijagnostički utjecaj. Primjer za navedene testove su POC za virus influence– za trijažu/liječenje u ambulantnoj skrbi, ekstenzivniji panel za VAP u jedinicama intenzivnog liječenja i slično.

U kalkulaciju treba uključiti potencijalni klinički utjecaj ali i uštede. Uštede se mogu odnositi na razliku troškova novih u odnosu na stare pretrage, što obično nije slučaj (zapravo nove pretrage najčešće koštaju više), jednostavna analiza, smanjenje odgoda u liječenju-ne tako jednostavna, krajnje uštede koje se odnose na antimikrobne lijekove, smanjenje nepotrebnih prijema u bolnicu, skraćenje duljine boravka u bolnici, smanjenje stopa mortaliteta i morbiditeta.

LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA SIFILISA - DOSEZI I OGRANIČENJA

BRANKA MARINOVIĆ

KBC Zagreb
Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu
branka.marinovic@kbc-zagreb.hr

DOMETI I OGRANIČENJA JEDINSTVENE MIKOLOŠKE LABORATORIJSKE DIJAGNOSTIKE

M. SKERLEV, M. Majdak, I. Repić, B. Ilić, G. Mareković, P. Đurinec

Klinika za dermatovenerologiju Kliničkog bolničkog centra Zagreb i Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb
Referentni centar Ministarstva zdravstva i socijalne skrbi Republike Hrvatske za dermatološku mikologiju i parazitologiju

Dermatomikoze su bolesti kože, adneksa kože (vlasišta, nokti), kao i sluznica (npr. genitalna sluznica) uzrokovane gljivama i jedna su od najčešćih bolesti i vrlo čest razlog posjete liječniku. Patogenost gljiva izrazito je ovisna o imunom odgovoru nosioca, stoga su gljive vrlo česti uzročnici oportunističkih infekcija. Ta je problematika danas vrlo aktualna s obzirom na sve veću primjenu imunosupresivne i antibiotske terapije, HIV-infekciju/AIDS, kao i zbog drugih razloga koji smanjuju prirodnu otpornost organizma. Patogeneza dermatomikoza svodi se na odnos između invazivne, keratinolitičke sposobnosti gljive i jačine imunološkog odgovora nosioca. Što se specifičnih obrambenih mehanizama tiče, postoji još puno nepoznanica, međutim, jasno je da celularni imunitet igra važniju ulogu od humoralnog. Svakako smatramo da nije na odmet naglasiti da su nativni mikroskopski preparat i kultura, bez obzira na sve češću primjenu PCR tehnologije, temeljni i nezaobilazni postupci mikološke laboratorijske dijagnostike kako bismo znali što liječimo.

Treba svakako napomenuti da moramo biti svjesni mogućnosti pojave dermatomikoze, ponekad i u drugačijem kliničkom obrascu nego što smo uobičajeno navikli, te u tom smislu usmjeriti pretrage kako bismo što ranije i preciznije verificirali dijagnozu i na vrijeme započeli adekvatno liječenje. Liječenju dermatomikoza, pogotovo u slučaju peroralne terapije, pristupamo samo na temelju pozitivnog rezultata kulture. Svaki drugi pristup danas se smatra neprimjerenim i predstavlja vitium arti.s

DIGITALNA PATOLOGIJA: PROŠLOST, SADAŠNJOST, BUDUĆNOST

ZLATKO MARUŠIĆ

KBC ZAGREB, ZAGREB, HRVATSKA
marusic_zlatko@yahoo.com

UVOD

Digitalna patologija, poznata i pod imenom virtualna mikroskopija, je područje patologije koje uključuje procese upravljanja, analize i interpretacije digitalnih informacija dobivenih skeniranjem stakalaca mikroskopskih preparata. Proces se oslanja na upotrebu računalne tehnologije za pretvaranje mikroskopskih preparata u digitalne slike visoke rezolucije (tzv. 'whole slide imaging', tj. WSI) koje se zatim mogu pregledavati, analizirati i interpretirati na monitoru ili mobilnom uređaju, umjesto na svjetlosnom mikroskopu.

CILJ

Cilj izlaganja je pružiti uvid u trenutne mogućnosti i primjenu digitalne patologije u svijetu i u Hrvatskoj.

MATERIJALI I METODE

Pružanje uvida u trenutno stanje digitalne patologije bit će učinjeno uspomoć pregleda pojedinih uređaja i softverskih rješenja za digitalnu patologiju, uz pregled dostupne literature.

REZULTATI I ZAKLJUČAK

U proteklih dvadeset godina postignuti su značajni rezultati u području hardverskih rješenja i softverskih alata digitalne patologije. Jedan od ključnih događaja bilo je odobrenje Američke administracije za hranu i lijekove (FDA) za upotrebu WSI sustava za primarnu dijagnozu u kirurškoj patologiji 2017. Sličan ključni događaj uslijedio je 2021., dodjelom odobrenja FDA za analizu histoloških preparata karcinoma prostate uspomoć softverskog sustava baziranog na umjetnoj inteligenciji. Trenutna primjena digitalne patologije znatno varira između pojedinih država, pri čemu se definitivno može ustvrditi da je etablirana i proširena kao alat za učenje i konzultacije. Na pojedinim mjestima digitalna patologija pronašla je svoje mjesto i u rutini, pri čemu je na svjetkoj razini jedan (još uvijek manji) dio laboratorija proveo digitalizaciju cjelokupnog obima posla. U Hrvatskoj su za sad u dijagnostičkim patološkim laboratorijima digitalni skeneri manjeg kapaciteta dostupni u nekoliko većih centara. Kompletna digitalizacija patologije ima potencijal da značajno unaprijedi razinu dijagnostike, pogotovo zloćudnih bolesti. Ista je u Hrvatskoj moguća već u kratkom roku i izgledno je da će prije ili kasnije u budućnosti biti provedena, no kako je riječ o procesu sa značajnim infrastrukturnim i financijskim zahtjevima, za intenzivniju implementaciju unutar sustava javnog zdravstva u Hrvatskoj potreban je uski dijalog svih zainteresiranih strana.

KLJUČNE RIJEČI

digitalna patologija; „whole slide imaging“; skener slajdova

PROBIR ZA RAK VRATA MATERNICE - PROBIRNI TESTOVI I NJIHOVA PRIMJENA

DANIJELA VRDOLJAK-MOŽETIČ

Klinički bolnički centar Rijeka, Rijeka, Hrvatska
danijela.vrdoljak.mozetic@kbc-rijeka.hr

UVOD

Rak vrata maternice nastaje iz dobro definiranih intraepitelnih prekanceroza koje je moguće na vrijeme otkriti i jednostavno liječiti, a time prevenirati razvoj invazivnog raka. Nastanak raka vrata maternice u velikoj većini slučajeva povezan je s dugotrajnom, kroničnom infekcijom s humanim papiloma virusom (HPV). U svrhu rane detekcije prekanceroza i početnog raka vrata maternice koriste se testovi bazirani na citologiji (papa test) koja detektira stanice prekanceroza i raka te na molekularnoj dijagnostici humanog papiloma virusa koji ukazuje na rizik od razvoja ili postojanja lezije.

CILJ

Cilj predavanja je prikazati najnovije spoznaje o probiru za rak vrata maternice, vrste testova koji se koriste te smjernice probira u Hrvatskoj i u svijetu.

MATERIJALI I METODE

Prikazat će se citološke pretrage vrata maternice (papa testa) metodama konvencionalne citologije i tekućinske citologije, vrste molekularnih analiza na HPV uz njihovu primjenu u različitim modelima probira, ovisno o organizaciji probira, dobi žene, riziku i intervalu između dva probirna testa. Prikazat će se upotreba imunocitokemijskog dvojnog bojenja na p16/Ki-67 u citologiji vrata maternice.

REZULTATI I ZAKLJUČAK

Kombinacija citologije (papa testa) i HPV testa danas predstavlja osnov probira za rak vrata maternice. Primarno citološko testiranje danas još uvijek predstavlja najčešći modalitet probira u većini zemalja, ali u novije vrijeme sve više se primjenjuje primarno HPV testiranje, samostalno ili u kombinaciji s citologijom kao kotest.

KLJUČNE RIJEČI

probir, rak vrata maternice, papa test, citologija, HPV test

CITOLOŠKA DIJAGNOSTIKA U PULMOLOGIJI

SILVANA SMOJVER-JEŽEK

KBC Zagreb

silvana.smojver-jezek@kbc-zagreb.hr

**SAŽETCI
KRATKIH
PREZENTACIJA
/ SHORT
PRESENTATION
ABSTRACTS**

EKSANGVINOTRANSFUZIJA

DAJANA ĐURIĆ

Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu
dajjana77@gmail.com

UVOD

Eksangvinotransfuzija je terapijski postupak kojim se vlastita krv odstranjuje iz organizma i zamjenjuje krvlju druge osobe. Najčešća indikacija za eksangvinotransfuziju je hemolitička bolest novorođenčeta (HBN) ABO i/ili RhD. Za taj postupak se koristi Koncentrat eritrocita u plazmi (KEuPL) koji se dobiva miješanjem koncentrata eritrocita sa smanjenim brojem leukocita jednog davatelja krvi (uobičajeno krvne grupe O) s otopljenom svježe zamrznutom plazmom (obično krvne grupe AB, ali može se upotrijebiti i plazma čija je ABO krvna grupa identična primateljvoj). RhD krvna grupa pripravka ovisit će o zahtjevu kliničara.

CILJ

Cilj liječenja je ukloniti majčina IgG protutijela i bilirubin te dopremiti svježe eritrocite u bebinu cirkulaciju.

MATERIJALI I METODE

Za pripravu jedne doze KEuPL uzima se 1 doza koncentrata eritrocita i 1 doza svježe zamrznute plazme prethodno otopljene. Koncentratu eritrocita se nakon centrifugiranja odvaja supernatant u kojemu se nalazi hranjiva otopina (SAGM) i protutijela plazme. Nakon toga na preostale eritrocite dodaje se točno određeni volumen otopljene plazme prema tablici za proizvodnju pripravka za eksangvinotransfuziju kako bi gotov pripravak imao hematokrit (Hct) od 0,4 do 0,5 (specificirani zahtjev kontrole kvalitete za Hct).

REZULTATI I ZAKLJUČAK

Proizvedene pripravke kontrolira Odjel za kontrolu kvalitete. U Hrvatskom zavodu za transfuzijsku medicinu u 2017. godini ukupno je kontrolirano 9 pripravaka za eksangvinotransfuziju i 7 je odgovaralo specificiranim zahtjevima kontrole kvalitete. U 2018. godini kontrolirano je 19 pripravaka i 17 pripravaka je odgovaralo zahtjevima. U 2019. godini kontrolirano je 16 pripravaka i 15 pripravaka je odgovaralo. U 2020. godini kontrolirano je 9 pripravaka uz zadovoljenje od 100%. U 2021. kontrolirano je 14 pripravaka, također uz zadovoljenje od 100%, te 2022. godine 8 pripravaka uz zadovoljenje od 100%. Svi pripravci koji nisu udovoljili specificiranim zahtjevima kontrole kvalitete imali su blago odstupanje u ciljnom hematokritu (Hct 0,51). Razlog je ručni postupak proizvodnje KEuPL te prilikom dodavanja plazme 2-3 ml manje dodane plazme rezultira porastom Hct za 0,01. Blago odstupanje Hct nije razlog da se pripravak ne primijeni te su svi proizvedeni pripravci primijenjeni za transfuzijsko liječenje.

KLJUČNE RIJEČI

koncentrat eritrocita, svježe zamrznuta plazma, hemolitička bolest novorođenčeta, eksangvinotransfuzija, hematokrit

PRETRANSPLANTACIJSKA IMUNOGENETIČKA OBRADA MOGUĆIH PRIMATELJA ORGANA U PROGRAMU KADAVERIČNE TRANSPLANTACIJE

MIRICA BATARELO, Natalija Martinez, Renata Žunec

KBC Zagreb, Zagreb, Hrvatska
mirica.batarelo@kbc-zagreb.hr

UVOD

Presadivanje organa je prihvaćena i uspješna metoda liječenja zatajenja funkcije organa koja je velikom broju bolesnika omogućila poboljšanje kvalitete života. Republika Hrvatska je 2007 godine postala punopravna članica Eurotransplanta, međunarodne neprofitne organizacije 8 punopravnih zemalja članica (Nizozemska, Belgija, Luksemburg, Njemačka, Austrija, Slovenija, Hrvatska i Mađarska) i 17 zemalja s potpisanim ugovorom o suradnji. Glavna uloga Eurotransplanta je zaprimanje prijava darivatelja organa, odabir potencijalnih kompatibilnih primatelja organa i na kraju uspješna alokacija i razmjena organa darivatelja. Odjel za tipizaciju tkiva KBC-a Zagreb zadužen je za obradu bolesnika za programe transplantacije bubrega, srca, jetre, pluća i multiorganske transplantacije unutar četiri, od ukupno pet, transplantacijskih centara u Hrvatskoj (KBC Zagreb, KB Merkur, KBC Osijek i KB Dubrava). Svi potencijalni primatelji organa, moraju u pretransplantacijskoj pripremi za prijavu na listu čekanja, osim kliničke obrade, proći i imunogenetička testiranja, koja uključuju tipizaciju gena HLA (određivanje Humanih Leukocitnih Antigena) i senzibilizaciju HLA određivanjem auto- i alo-antitijela HLA te za vrijeme aktivnog statusa na listi čekanja za transplantaciju periodičko obnavljanje statusa senzibilizacije HLA.

CILJ

Analizirati godišnji broj bolesnika i imunogenetičkih testiranja u programu transplantacije solidnih organa u Odjelu za tipizaciju tkiva KBC Zagreb.

MATERIJALI I METODE

Analizirane su baze podataka te broj bolesnika u programu transplantacije solidnih organa u 2022 godini za koje je provedena prije-transplantacijska obrada i obnova nalaza na listi čekanja.

REZULTATI I ZAKLJUČAK

U 2022 godini na testiranja za prijavu na listu čekanja došlo je ukupno 328 bolesnika, od čega najviše mogućih primatelja bubrega (n=182; 56%) te mogućih primatelja srca (n=104; 32%). Bolesnika za prijavu na listu čekanja za transplantaciju pluća bilo je 25, dok je za multiorganske transplantacije obrađeno 9 bolesnika, koliko je bilo i bolesnika za transplantaciju jetre. U programu transplantacije bubrega sa živog darivatelja, obrađeno je 34 mogućih srodnih darivatelja. U istom razdoblju u četiri tromjesečna periodička testiranja obnove nalaza senzibilizacije serološkom metodom obrađeno je 1247 uzoraka seruma bolesnika na listama čekanja, dok je u periodičkom jednogodišnjem testiranju metodom čvrste faze Luminex nalaz senzibilizacije HLA obnovljen za 253 bolesnika. Imunogenetička prije-transplantacijska testiranja te redovita obnova nalaza na listi čekanja zahtjevan je i obiman program koji je, uz sve ostale kliničke čimbenike, također jedan od preduvjeta uspješnog transplantacijskog programa u kojem je tijekom 2022.godine u Hrvatskoj ukupno transplantirano 255 organa, od čega najviše bubrega (112) i jetre (89), zatim srca (38) te pluća (10) i gušterače (6) što prema stopi transplantacije na milijun stanovnika Hrvatsku svrstava u vodeće zemlje svijeta u području transplantacijske medicine.

KLJUČNE RIJEČI

eurotransplant, kadaverična transplantacija, imunogenetička obrada primatelja organa

VAŽNOST PROTUTIJELA NON-HLA U PREDTRANSPLANTACIJSKOJ OBRADI PACIJENATA

AIDA MUJIĆ FRANIĆ¹, Marko Lilić², Nataša Katalinić¹, Ljubica Glavaš-Obrovac³

¹ Klinički bolnički centar Rijeka, Rijeka, Hrvatska

² Jasika d.o.o., Zagreb, Hrvatska

³ Medicinski fakultet, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Osijek, Hrvatska
amujic3@gmail.com

UVOD

Značaj sustava HLA u transplantaciji organa je u imunosnom prepoznavanju stranih antigena i poticanju imunosne reakcije odbacivanja. Pritom glavnu ulogu imaju molekule HLA razreda I i razreda II. Novija istraživanja i slučajevi odbacivanja presatka posredovanog protutijelima bez dokazane prisutnosti protutijela HLA, ukazuju da na ishod preživljavanja presatka važan utjecaj imaju i protutijela na molekule izvan sustava HLA tzv. protutijela non-HLA. Pojam "protutijela non-HLA" upotrebljava se u imunologiji za opisivanje autoreaktivnih i aloreaktivnih protutijela specifičnih za molekule koje nisu HLA.

CILJ

Cilj istraživanja bio je potvrditi sposobnost protutijela non-HLA za vezanje komplementa, utvrditi trenutne mogućnosti testiranja te dati smjernice za kliničku primjenu testiranja protutijela non-HLA.

MATERIJALI I METODE

Istraživanje je provedeno na serumima 74 pacijenata s liste čekanja za transplantaciju bubrega KBC-a Rijeka. Najprije su određivana IgG protutijela non-HLA pojedinog pacijenta u panelima od 60 različitih molekula non-HLA metodom čvrste faze s mikrosferama. Prijašnja istraživanja upućuju na korelaciju antigena u upotrebljavanom panelu s nastankom protutijela koja mogu dovesti do posttransplantacijskih reakcija. Zatim je provjeravano koja od tih protutijela mogu aktivirati kaskadu komplementa, što je postignuto inkubacijom s objedinjenim serumom dobivenim od muških netransfundiranih davatelja krvi kao izvorom komplementa. Predloženi su algoritmi za dokazivanje seruma koji sadrže komplement-vezujuća protutijela na pojedine antigene non-HLA.

REZULTATI I ZAKLJUČAK

Od ukupno 74 ispitanika u njih 6 (8,11%) nisu dokazana IgG protutijela non-HLA. Ukupno je 31 ispitanik (41,89%) imao isključivo IgG protutijela non-HLA koja ne vežu komplement. Prema upotrebljavanom algoritmu u preostalih 37 ispitanika (50,00%) utvrđena su stvarna i moguća komplement-vezujuća protutijela non-HLA. Za potpuniji uvid u rezultate efikasnije je pratiti reaktivnost seruma na pojedine antigene (u ovom panelu ukupno 4440 antigena). Od njih je 605 (13,63%) vezalo IgG protutijela non-HLA. Stvaran i mogući razvoj komplement-vezujućih protutijela non-HLA utvrđen je za 56 antigena (1,26%). Učestalost stvarno dokazanih komplement-vezujućih protutijela non-HLA u ukupnom broju IgG protutijela non-HLA je 14/605 (2,31%). Za preostalih 42/605 (6,94%) protutijela potrebno je sofisticiranijim prilagodbama algoritma utvrditi vežu li komplement ili ne. Zanimljivo je da preostalih 549/605 (90,75%) IgG protutijela non-HLA nije pokazalo mogućnost vezanja komplementa. Ovih 14 potvrđenih komplement-vezujućih protutijela HLA dokazano je u ukupno 11 (14,87%) ispitanika. U dvoje (2,70%) ispitanika pronađena su višestruka komplement-vezujuća protutijela non-HLA (u jednog na dva, u drugog na tri antigena non-HLA). Ovo istraživanje je pokazalo važnost testiranja protutijela non-HLA u predtransplantacijskoj obradi pacijenata. Potrebno je utvrditi što više čimbenika koji bi mogli dovesti do posttransplantacijskih reakcija i odbacivanja organa. Za sveobuhvatniju kliničku važnost ovih rezultata potrebna su dodatna istraživanja.

KLJUČNE RIJEČI

protutijela non-HLA, transplantacija, odbacivanje organa, komplement

PRIPREMA IMUNOLOŠKI VISOKO RIZIČNIH BOLESNIKA ZA TRANSPLANTACIJU BUBREGA

VLATKA SINKOVIĆ

KBC Zagreb, Zagreb, Hrvatska
vlatkasinkovic7@gmail.com

UVOD

Imunogenetska ispitivanja su neizostavan dio pripreme za transplantaciju. Osnovni im je cilj naći par primatelj/darivatelj sa najmanjom nepodudarnošću – MISMATCH (MM). Povećanjem broja transplantacija u zadnjih 15 godina, značajno je porastao udio bolesnika koji čeka drugu, treću li čak četvrtu transplantaciju bubrega, te su posljedično tome visoko senzibilizirani. Udio protutijela u njihovoj krvi dramatično smanjuje vjerojatnost pronalaska odgovarajućeg organa, te povećava mogućnost odbacivanja, odgodu funkcije i/ili vrijeme preživljavanja presatka.

CILJ

Ukoliko nemaju živog darivatelja, kod tih je bolesnika moguće koristiti protokole desenzibilizacije sa ciljem smanjivanja titra protutijela. Desenzibilizacija se može provoditi tijekom boravka na Listi, ali i u neposrednom predtransplantacijskom i posttransplantacijskom tijeku. Cilj desenzibilizacije je: a) povećati šansu za uspješnu transplantaciju kod bolesnika koji su visoko senzibilizirani, b) prevenirati protutijelima posredovano odbacivanje.

MATERIJALI I METODE

Imunološki visokorizični bolesnici velik su izazov za cijeli transplantacijski tim prije, tijekom i nakon transplantacije. Sestrinska skrb u pripremi takvih bolesnika za transplantaciju uključuje i aktivnu suradnju sa ekipom Zavoda za tipizaciju tkiva i to od trenutka kada je bolesnik spreman za tipizaciju tkiva do poslije transplantacijskog praćenja. Praćenje % PRA prije transplantacije i DSA (donor specifična protutijela) nakon transplantacije važni su preživljenje presatka, titriranje doze imunosupresivne terapije, sprečavanje i liječenje potencijalnih komplikacija, a time i kvalitetu života bolesnika.

REZULTATI I ZAKLJUČAK

Priprema imunološki visokorizičnih bolesnika za transplantaciju bubrega eklatantan je primjer kako suradnja svih članova tima može odgovoriti na izazov i omogućiti bolesniku najbolju strategiju za liječenje kronične bubrežne bolesti.

KLJUČNE RIJEČI

transplantacija bubrega, tipizacija, senzibilizacija, imunološki visoko rizični bolesnici

USPOREDBA GLUKOMETARA ACCU-CHEK PERFORMA I VIVACHEK INO S ANALITIČKIM SUSTAVOM BECKMAN COULTER DXC700 AU

KARLO ŽIVATOVIĆ

Opća bolnica „Dr. Josip Benčević“, Slavonski Brod, Hrvatska
karlozivatovic@gmail.com

UVOD

Dijabetes predstavlja skupinu metaboličkih bolesti karakteriziranih visokim koncentracijama glukoze u krvi. Bolesti povezane s dijabetesom i komplikacije koje uzrokuju danas predstavljaju veliki javnozdravstveni problem. Kronična hiperglikemija povezana je s oštećenjem i zatajenjem brojnih organa. Liječenje i kontroliranje tijeka bolesti nije jednostavno i ovisi o prirodi samog poremećaja. Vrlo važnu ulogu u kontroliranju tijeka bolesti imaju česte prilagodbe lijekova, pridržavanje zdravih hranidbenih navika i tjelovježbe zajedno s kontroliranjem razine glukoze u krvi. Koncentracija glukoze u krvi se vrlo lako može kontrolirati pomoću "point of care" dijagnostike uz samog pacijenta pomoću glukometara. Postoji više proizvođača glukometara, a samim time i veliki opseg cijena po kojima se mogu nabaviti i dok je velika prednost "point of care" dijagnostike mogućnost da si pacijent sam kontrolira razinu glukoze u krvi, ostaje veliki problem kontrole i održavanja samog glukometra te se postavlja pitanje mogu li se rezultati mjerenja koncentracije glukoze pomoću glukometara, onih jeftinijih i skupljih, usporediti s rezultatima analizatora u laboratorijima.

CILJ

Cilj obavljenog istraživanja je ustanoviti jesu li glukometri za kućnu upotrebu usporedivi s velikim analitičkim sustavom u centralnom laboratoriju.

MATERIJALI I METODE

Mjerenja su rađena na uzorcima 56 nasumično odabranih pacijenata kojima je mjerena glukoza iz pune krvi paralelno na glukometru Accu-Chek Performa (Roche) te glukometru VivaChek Ino (Vivachek Biotech). Neposredno nakon toga mjerena je koncentracija glukoze iz plazme istih uzoraka na analizatoru DxC700 AU (Beckman Coulter). Dobiveni podaci analizirani su u softverskom programu MedCalc inačice 22.007 koristeći Passing-Bablokovu regresijsku analizu i Bland-Altmanov graf.

REZULTATI I ZAKLJUČAK

Bland-Altmanova analiza pokazala je kako odstupanja vrijednosti glukoze od analizatora DxC700 AU kod Vivacheka prelaze i 50 % uz prevalenciju nižih vrijednosti u usporedbi s analizatorom DxC700 AU, dok se kod Accu-Cheka ta odstupanja kreću do maksimalnih 12 % u oba smjera. Passing-Bablokova regresijska analiza pokazala je kako postoji sistemska pogreška ($y = -1,4772$ (CI % od -2,0350 do 0,9000) + 1,0965X (CI % od 1,0000 do 1,2000)) kod VivaChek glukometra, dok kod AccuCheka nema ni sistemske ni proporcionalne pogreške. Glukometar VivaChek Ino nije preporučljivo koristiti za pouzdanu procjenu glukoze u krvi, dok je glukometar Accu-Chek Performa potpuno pouzdan budući da je usporediv s referentnim analizatorom koji se koristi u centralnom laboratoriju. Cijena je često važan faktor pri odabiru novog analizatora, no ovim istraživanjem je utvrđeno da je viša cijena Accu-Chek Performa glukometra potpuno opravdana na temelju njegove pouzdanosti i točnosti.

KLJUČNE RIJEČI

Dijabetes, glukometar, "point of care", glukoza

UČESTALOST GESTACIJSKOG DIJABETESA KOD TRUDNICA PODVRGNUTIH OGTT TESTU U OPĆOJ BOLNICI „DR. JOSIP BENČEVIĆ“ SLAVONSKI BROD

MARINA MARTINOVIĆ

Opća bolnica „Dr. Josip Benčević“
mmartinovic1@gmail.com

UVOD

Gestacijski dijabetes (GD) predstavlja poremećaj metabolizma glukoze koji se prvi put javlja i otkriva u trudnoći te je povezan s neželjenim ishodima trudnoće za plod i dugoročnim zdravstvenim rizicima za majku. Učestalost GD-a u svijetu raste, a najčešći faktori su debljina i sve starija dob trudnica. IADPSG (*International Association for the Diabetes and Pregnancy Study Groups*) 2010. godine objavila je preporuke za dijagnozu GD-a koje je Svjetska zdravstvena organizacija (WHO) 2013. prihvatila. Dijagnoza GD-a postavlja se na temelju rezultata testa oralnog opterećenja glukozom (OGTT) koji se provodi između 24. i 28. tjedna trudnoće. Prema važećim smjernicama povišene koncentracije glukoze definirane su kao koncentracija natašte ≥ 5.1 mmol/l, nakon 60 minuta ≥ 10.0 mmol/l ili nakon 120 minuta ≥ 8.5 mmol/l. Ako je bilo koja od triju vrijednosti glukoze u serumu povišena, postavlja se dijagnoza GD-a.

CILJ

Izmjeriti učestalost gestacijskog dijabetesa u populaciji trudnica podvrgnutih OGTT testu u Općoj bolnici „dr. Josip Benčević“ Slavonski Brod te procijeniti postoji li korelacija između pojavnosti GD-a i dobi pacijentica.

MATERIJALI I METODE

Retrospektivna studija obuhvaća 228 trudnica podvrgnutih OGTT testu između 1. siječnja 2023. i 1. lipnja 2023. godine. Dijagnoza GD-a temeljila se na rezultatima triju mjerenja razine glukoze u serumu - natašte (0 minuta), nakon 60 minuta i nakon 120 minuta. Trudnice su nakon prvog vađenja opterećene sa 75 g glukoze. Koncentracija glukoze određivana je na biokemijskom analizatoru DxC 700 AU (Beckman Coulter, SAD). Za statističku obradu podataka korišten je računalni program MedCalc (19.2.6.). Trudnice s dijagnozom GD-a podijeljene su u tri dobne skupine: 1) 19-25 godina, 2) 26-35 godina i 3) 35-44 godina.

REZULTATI I ZAKLJUČAK

GD je dijagnosticiran kod 48 trudnica (21,05 %). Prosječna razina glukoze iznosila je $x = 4,6$ mmol/l natašte, $x = 7,4$ mmol/l nakon 60 minuta te $x = 5,9$ mmol/l nakon 120 minuta. Za analizu statističke značajnosti među dobnim skupinama korišteni su Kruskal-Wallisov test (0', 60') te jednostrana ANOVA (120') koji nisu pokazali statistički značajne razlike među dobnim skupinama. ($P < 0,05$) U ovoj retrospektivnoj studiji, GD je dijagnosticiran kod 21,05% trudnica, no nije pronađena statistički značajna korelacija između dobi i pojavnosti GD-a. Potrebno je provođenje opsežnijeg istraživanja koje obuhvaća dulje vremensko razdoblje za precizniju interpretaciju među skupinama. Dijagnostika i liječenje GD-a izuzetno su važni za preveniranje komplikacija pri porodu, a kontinuirano praćenje glukoze tijekom i nakon trudnoće pruža priliku za intervenciju kod žena s rizikom od razvoja dijabetesa tipa 2 i metaboličkog sindroma.

KLJUČNE RIJEČI

gestacijski dijabetes, OGTT, glukoza, trudnoća

VRIJEDNOSTI BIOKEMIJSKIH ANALIZA U ODNOSU NA STUPANJ OBOLJENJA COVID POZITIVNIH PACIJENATA

EHLIMANA POBRIĆ¹, Eedhem Hasković², Kenan Galijašević³

pobricehlimana@hotmail.com

² Prirodno matematički fakultet, Univerziteta u Sarajevu

³ Medicinski fakultet, Univerziteta u Zenici

UVOD

Uvod: Slično kao SARS-CoV i MERS-CoV, infekcija sa SARS-CoV-2 u početnoj fazi izaziva blage simptome, ali ima potencijal da se razvije u tešku bolest, uključujući i razvoj sindroma sistemskog upalnog odgovora, sindroma akutnog respiracijskog distresa, zahvaćanje više organa i razvoja šoka. Stoga je važno pratiti biokemijske parametre oboljelih uz procjenu težine oboljenja.

CILJEVI

Utvrđiti dobnu i spolnu strukturu pacijenata u odnosu na stupanj kliničke slike prema MEWS skali; Prikazati srednje vrijednosti biokemijskih parametara u odnosu na stupanj oboljenja; Korelirati biohemijske parametre sa stepenom težine kliničke slike.

MATERIJALI I METODE

Istraživanje je provedeno u Općoj bolnici Tešanj u službi za laboratorijsku dijagnostiku. Obuhvatilo je 545 hospitaliziranih pacijenta pozitivnih na koronavirus s prostora općine Tešanj i susjednih općina na COVID odjeljenju tešanjске bolnice u periodu od 04.2021. – 10.2022. godine.

REZULTATI I ZAKLJUČAK

Od ukupnog broja ispitanika, 229 (42%) muških i 161 (29,5%) ženskih ispitanika je imalo blagu kliničku sliku. Srednje tešku kliničku sliku sa dijagnosticiranom pneumonijom imalo je 19 (3,5%) muških i 22 (4%) ženskih ispitanika. Tešku nestabilnu kliničku sliku, odnosno pneumoniju i na terapiji kisikom je imalo 57 (10,5%) muških i isto toliko 57 (10,5%) ženskih ispitanika. Na osnovu rezultata Anova testa, nije utvrđena statistička značajnost u odnosu spola i težine kliničke slike ($p>0,05$), kao ni u odnosu vrste studija i težine kliničke slike ($p>0,05$). Zaključak: Srednja vrijednost uree, kreatinina, acidum uricum, ukupnog bilirubina, AST-a, ALT-a, LDH i CRP je proporcionalno rasla sa težinom kliničke slike, dok je srednja vrijednost ukupnih proteina i albumina bila u padu. Izmjerene vrijednosti su bile u jakoj pozitivnoj korelaciji sa težinom kliničke slike.

KLJUČNE RIJEČI

Ključne riječi: biokemijska analiza, stupanj oboljenja, MEWS skala, COVID-19

KAKO DO EFIKASNOG LABORATORIJSKOG MENADŽMENTA

EMINA SMAJIĆ

Poliklinika Agram
emina_colic@hotmail.com

UVOD

Biomedicinski laboratorij u zdravstvenoj skrbi namijenjen je provođenju biokemijskih, hematoloških, imunoloških, mikrobioloških, molekularnih i drugih ispitivanja s ciljem dobivanja informacija neophodnih za dijagnostiku, prevenciju ili liječenje bolesti. U biomedicinskim laboratorijama radi veliki broj laboratorijskih profesionalaca, različitog nivoa obrazovanja i specijalnosti. Uz to, u laboratoriju su djelatnici izloženi raznim vrstama opasnosti, poput bioloških i kemijskih agenasa kao i radioaktivnih tvari, što kliničke laboratorije čini radnim okruženjem visokog rizika. Uslijed nepridržavanja kliničkog protokola naručivanja pretraga dolazi do prekomjerne uporabe kliničkih laboratorijskih ispitivanja i povećavanja troškova za zdravstveni sustav. Zbog kompleksnosti svega navedenog izuzetno je važan proces planiranja koji omogućava bolje usmjeravanje organizacije, veću fleksibilnost i bolju koordinaciju rada. Uz pomoć strateškog menadžmenta i planiranja, koji uključuju perspektivne ciljeve kao i pokazatelje pomoću kojih se može provoditi praćenje, mogu se postići kvantitativna i kvalitativna kontrola postignuća kako u kratkoročnom i dugoročnom periodu.

CILJ

Cilj ovog rada je prikazati suvremene menadžerske strategije kojih bi se trebalo pridržavati kod razvoja modela za izradu strateškog plana biomedicinskog laboratorija.

MATERIJALI I METODE

Za potrebe ove prezentacije proučena je suvremena relevantna literatura kao i primjeri dobre prakse.

REZULTATI I ZAKLJUČAK

Ako biomedicinski laboratorij želi biti prepoznat kao laboratorij izvrsnosti mora se voditi vizijom dobre laboratorijske prakse integrirajući nova znanja i tehnološke promjene, uz akreditaciju prema ISO 15189. Strateški plan laboratorija trebao bi biti izrađen u skladu sa planom zdravstvene ustanove uvažavajući smjernice Upravnog vijeća koje isti plan odobrava. Strateški plan laboratorije mora sadržati jasne pokazatelje za praćenje i evaluaciju postavljenih ciljeva. Biomedicinski laboratoriji koji su implementirali sustav upravljanja kvalitetom (ISO 15189) u skladu sa regulatornim zahtjevima, lakše ostvaruju postavljene ciljeve strateškog plana.

KLJUČNE RIJEČI

Strateški menadžment, planiranje, biomedicinski laboratorij

PRIMJENA MLPA METODE U ODREĐIVANJU BROJA KOPIJA GENA *SMN1* I *SMN2* KOD PACIJENTA SA SUMNJOM NA SPINALNU MIŠIĆNU DISTROFIJU

ANA ACMAN BARIŠIĆ, Ana Merkler Šorgić, Hana Ljubić, Domagoj Caban, Karolina Petrović, Ivana Rako

KBC ZAGREB, Zagreb, Hrvatska
aacman1@gmail.com

UVOD

Spinalna mišićna atrofija (SMA) je najčešća nasljedna neuromuskularna bolest s prevalencijom 1:10 000 živorođenih. Frekvencija nositelja je 1 : 40 do 1 : 60, što ju čini drugom autosomno recesivnom bolesti po učestalosti, odmah iza cistične fibroze. Procjenjuje se da je prevalencija SMA u Hrvatskoj 9,3 : 100 000. Nasljeđuje se autosomno recesivno. Geni *SMN1* i *SMN2* povezani sa dijagnozom SMA smješteni su na 5. kromosomu, a njihov produkt SMN protein je presudan za preživljavanje neurona i stvaranje neuromuskularnih spojeva. Gen *SMN1* određuje status SMA nositelja kao i SMA bolesnika te je primarni gen koji kodira SMN protein, dok je *SMN2* rezervni gen. Postoji više kliničkih podtipova bolesti: SMA 0; SMA I ili akutni infantilni (Werdnig-Hoffmanova bolest); SMA II ili kronični infantilni; SMA III ili kronični juvenilni (Kugelberg-Welanderova bolest); i SMA IV ili adultni tip. Pravovremena i brza dijagnoza SMA je od izrazitog značaja, jer su oštećenja neurona do kojih dolazi prije pružanja medicinske pomoći neizlječiva. U 95-98% slučajeva SMA bolesnici su homozigoti za deleciju eksona 7 i/ili 8 gena *SMN1* (0 kopija gena *SMN1*), a u 2-5% su složeni heterozigoti (delecija jedne kopije gena *SMN1*), dok prisutna kopija gena ima točkastu mutaciju koja se može otkriti sekvenciranjem. Ranim postavljenjem dijagnoze pacijentima se omogućuje primanje genske terapije već u prvim danima života te pruža prilika za kvalitetniji život.

CILJ

Cilj rada bio je utvrđivanje mutacija/kopija gena *SMN1* i *SMN2* kod pacijenta upućenih na molekularno-genetičku analizu zbog kliničkih simptoma SMA ili postojanja iste u obiteljskoj anamnezi.

MATERIJALI I METODE

Analizirani su uzorci DNA izdvojeni iz periferne krvi ili prenatalnih uzoraka (korionske resice i kultura stanica plodne vode). Metoda korištena za utvrđivanje mutacija/kopija gena *SMN1* i *SMN2* je MLPA (PO21-B1 SMA) te kapilarna elektroforeza provedena na uređaju 3500XL Genetic Analyzer. Dobiveni rezultati analizirani su u programu Coffalayer.Net.

REZULTATI I ZAKLJUČAK

Analizirano je 1567 uzoraka. Udio potvrđenih SMA bolesnika od ukupnog broja testiranih je 8,42 %. Homozigotna delecija eksona 7 i 8 *SMN1* gena je utvrđena u 71,21 %, dok je kod 28,79 % bolesnika utvrđena samo delecija eksona 7 *SMN1* gena. MLPA metoda brza je i pouzdana molekularna genetička analiza što je od iznimnog značaja u ranom postavljanju dijagnoze. Uspoređujući dobivene rezultate s literaturnim navodima vidljivo je da učestalost SMA u Republici Hrvatskoj odgovara učestalosti u svijetu.

KLJUČNE RIJEČI

spinalna mišićna atrofija, *SMN1*, MLPA

DETECTION OF CRISPR-CAS SYSTEM IN CARBAPENEM-RESISTANT AND CARBAPENEM-SUSCEPTIBLE *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* CLINICAL ISOLATES IN CROATIA – PRELIMINARY RESULTS

Ivana Jurić¹, Ivana Ivančić-Baće², Zrinka Bošnjak³, Ana Budimir³, Manda Markanović¹, Tomislav Kuliš¹, Ivana Mareković³

¹ University Hospital Center Zagreb, Zagreb, Croatia

² Faculty of Science, University of Zagreb, Zagreb, Croatia

³ University Hospital Center Zagreb; School of Medicine, University of Zagreb, Zagreb, Croatia
ijuric4@kbc-zagreb.hr

INTRODUCTION

Clustered regularly interspaced short palindromic repeats (CRISPR) and their associated genes (*cas*) are widespread in the genome of many bacteria providing adaptive immunity against invasive genetic elements such as plasmids that often carry drug-resistant genes. The emergence of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* poses a serious threat to human health due to problems with clinical treatment. Five most common types of carbapenemases encoded by plasmids are KPC, VIM, NDM, IMP; and OXA-48-like carbapenemases. What role, if any, the CRISPR-Cas system of *K. pneumoniae* plays in carbapenem-resistance remains largely unknown.

GOAL

We aimed to characterize and correlate the prevalence of the CRISPR-Cas system and its association with carbapenem-resistance in *K. pneumoniae* clinical isolates at the University Hospital Centre Zagreb.

METHODS

After MALDI-TOF mass spectrometry identification, carbapenem susceptibility was examined by disc diffusion and microdilution for minimal inhibitory concentration (MIC) determination. The presence of KPC, IMP, NDM, VIM, and OXA-48-like carbapenemases was initially detected by immunochromatographic assay. Carbapenemase and *cas1* gene, specific for CRISPR-Cas system, were detected by polymerase chain reaction (PCR) and agarose gel electrophoresis. We used the Chi-square test to verify the difference between categorical variables. In cases where there were more than two groups, we applied post hoc Bonferroni correction. For the statistical analyses, we utilized MedCalc Statistical Software version 20.0.4. All reported *p*-values are two-sided, and statistical significance was defined as $p < 0.05$.

RESULTS AND CONCLUSION

Total of 81 carbapenem-susceptible (CSKP) and 158 carbapenem-resistant (CRKP) *K. pneumoniae* isolates were investigated. Out of 239 *K. pneumoniae* clinical isolates, 21.8 % had *cas1* gene present. The prevalence was higher in CRKP (39/158; 24.7 %) in comparison to CSKP (13/81; 16 %), however it was not statistically significant ($p = 0.1257$). Among CRKP, *cas1* gene was the least frequently present among OXA-48-producing isolates (2/94; 2.1 %) ($p < 0.0001$). Among other CRKP isolates it was present as follows – 66.7 % (28/42) in NDM, 66.7 % (8/12) in KPC and 10 % (1/10) in NDM OXA-48-producing isolates. We found for the first time that the CRISPR-Cas system is moderately distributed among *K. pneumoniae* clinical isolates in Croatia. Although more frequently present in CRKP, this difference was not statistically significant. Interestingly, the low frequency of *cas1* in OXA-48-producing isolates, the most prevalent type of CRKP in Croatia, may indicate negative role of CRISPR-Cas system on distribution of this carbapenemase gene in *K. pneumoniae* in our country. Specific CRISPR-Cas type has not been determined and the exact role of CRISPR-Cas system in the spread of *K. pneumoniae* carbapenem-resistance is yet to be analyzed.

KLJUČNE RIJEČI

CRISPR-Cas, *cas1*, carbapenems, antimicrobial resistance, *Klebsiella pneumoniae*

ODREĐIVANJE VIRUSNOG OPTEREĆENJA I KORELACIJA SA KOPIJAMA GENOMA U KLINIČKIM UZROCIMA OBOLJELIH OD INFEKCIJE MPOX VIRUSA

IVONA SPUDIĆ, Stjepan Mitrović, Ivan-Christian Kurolt, Barbara Anđelić Dmitrović

Klinika za infektivne bolesti „Dr. Fran Mihaljević“, Zagreb, Hrvatska
ispudic@bfm.hr

UVOD

Mpox je zoonotski DNA virus (MPXV), obitelji *Poxviridae*, ranije poznat kao majmunske boginje. Prenosi se direktnim kontaktom, ali i kapljičnim putem nakon dužeg izlaganja sa zaraženim čovjekom, životinjom i inficiranim predmetima. Tijekom 2022. godine evidentirana je globalna epidemija MPXV, sa više od 87000 oboljelih. MPXV DNA se može dokazivati u uzorcima slina, ejakulata, urina, fecesa, briseva kožnih lezija, područja rektuma, nazo- ili orofarinksa.

CILJ

Dokazivanje genoma virusa ne potvrđuje i prisutnost virusnih čestica. Cilj istraživanja je bio odrediti zaraznost virusa prema vrsti uzorka i utvrditi korelaciju broja genomskih kopija MPXV iz pozitivnih uzoraka sa brojem infektivnih čestica.

MATERIJALI I METODE

Korišteno je 38 kliničkih uzoraka testiranih na MPXV u razdoblju od srpnja 2022. do siječnja 2023. godine, u Gradu Zagrebu. U 33 brisa prethodno je potvrđena, dok u 5 briseva nije potvrđena infekcija MPXV. Za određivanje broja kopija genoma izolirana je MPXV DNA iz 200 mikrolitara po uzorku. Korišten je G2R standard za determinaciju broja kopije gena prema Li i sur. 2010. Razrijeđeni uzorci (1:2 i 1:10) su u BSL3 laboratoriju nasađeni u duplikatu na mikrotitarsku pločicu sa 95% konfluentnim Vero E6 stanicama. Nakon inkubacije od 1h, pri 37°C i 5% CO₂, dodano je 500ul „overlay“ sa 2,25% Tragacanth gume. Nakon sljedeće inkubacije od 72h uzorci su inaktivirani sa 10% formalina, obojeni sa 0,025% Crystal Violet i izbrojani su plakovi. Za promatranje citopatskog učinka svi uzorci su dodatno nasađeni i razrijeđeni (1:2) istim postupkom, ali bez „overlay“ medija. Iz 200μL staničnog medija izolirana je DNA i određen broj kopija genoma MPXV.

REZULTATI I ZAKLJUČAK

Kvantifikacijom virusa vidljiva je korelacija titra virusa s brojem kopija genoma. U 27/33 uzorka je bilo moguće izolirati i kvantificirati virus, dok u 6 uzoraka orofarinksa to nije bilo moguće. Titar virusa u 14 uzoraka kožne lezije je u rasponu od 1,397 do >4,511 Log₁₀ PFU/mL, a u 7 uzoraka brisa rektuma od 1,875 do >4 Log₁₀ PFU/mL. Time se može zaključiti kako virus u brisu orofarinksa nije infektivan u jednakoj mjeri kao virus iz ostalih korištenih uzoraka unatoč prisutnosti MPXV DNA. 9% uzoraka orofarinksa, 79% uzoraka kožnih lezija i 100% uzoraka rektuma imaju infektivne čestice i koreliraju sa brojem genoma. Uzorci sa više od 768,74 kopija genoma sadržavaju infektivne virusne čestice.

KLJUČNE RIJEČI

broj genoma, citopatski učinak, infektivne čestice, korelacija, MPXV

GENSKO PROFILIRANJE TUMORA U PATOLOGIJI

MARINA BAKULA

Klinički bolnički centar Osijek, Osijek, Hrvatska
bakula.marina@gmail.com

UVOD

Osim temeljnih patohistoloških analiza, u patologiji se sve više koristi molekularna dijagnostika zbog genskog profiliranja tumora na temelju koje se mijenja onkološki pristup liječenju. Pristupa se personaliziranom liječenju na temelju genskih mutacija gdje se u velike olakšava put do toga da se maligna bolest prenese u kroničnu bolest. Tijekom prošlog desetljeća ulagani su napori da se razjasne molekularni profili tumora, njihova heterogenost te najrelevantniji podaci o molekularnoj klasifikaciji. Postalo je očito kako je molekularna profilacija iznimno važan aspekt evaluacije tumora, te da ga treba na prvom mjestu uzeti u obzir pri donošenju odluka o liječenju.

CILJ

Cilj prezentacije je prikazati sveukupan način rada i metode na Kliničkom zavodu za patologiju i sudsku medicinu u KBC Osijek. Put od biopsije do molekularne diferencijacije tumora, načine i metode kojima radimo. Prikazati napredak u tehnologijama sekvenciranja koji je omogućio identifikaciju važnih molekularnih putova uključenih u progresiju i otpornost na liječenje.

MATERIJALI I METODE

Metode rada koje će biti prikazane su osnovna histološka tehnika bojanja, imunohistokemija, histokemija, te molekularne analize. KRAS mutacija kod karcinoma debelog crijeva, NRAS/BRAF mutacija kod KRAS negativnog karcinoma. BRAF mutacija kod malignog melanoma. EGFR mutacija kod adenokarcinoma pluća i općenito mutacije kod karcinoma pluća nemalih stanica. FISH analize kod limfoproliferativnih bolesti.

REZULTATI I ZAKLJUČAK

Molekularna dijagnostika vodi prema razvoju novih terapijskih postupaka gdje su ciljane analize određene točno prema biomarkerima u tumoru na temelju kojih se pristupa personaliziranom liječenju. Unatoč velikom napretku u dijagnostici i terapiji koja ide u pravcu inhibicije biomarkera koji su osnovni pokretači bolesti dolazi do mutacije tumora nakon izvjesnog vremena. U tom slučaju tumori mijenjaju svoj genski profil što rezultira neučinkovitošću daljnjeg liječenja.

KLJUČNE RIJEČI

biopsija, imunohistokemija, molekularna dijagnostika, tumori, KRAS, NRAS/BRAF, BRAF, EGFR, mutacije, FISH analize personalizirano liječenje

ANALIZA DOBRIH PRAKSI STUDIJSKIH PROGRAMA IZ BIOMEDICINSKO-LABORATORIJSKE ZNANOSTI KOJI SE IZVODE U VELIKOJ BRITANIJU

LJILJANA BRNETIĆ

KB SVETI DUH, Zagreb, Hrvatska
ljiljana.brnetic@yahoo.com

UVOD

Karakteristike današnjeg doba su sve veći i brži razvoj znanosti i tehnologije te dostignuća u brojnim znanstvenim područjima, uključujući polje biomedicinsko-laboratorijske znanosti. Nove dijagnostičke metode i njihova primjena zahtijevaju sve veću stručnost koja se postiže kontinuiranim razvijanjem i usavršavanjem sustava obrazovanja na visokoškolskoj razini. Kao primjer dobre prakse razvoja studijskih programa odabrano je nekoliko sveučilišta u Velikoj Britaniji čiji modeli sveučilišnog obrazovanja imaju izvrsne pokazatelje u razvoju studijskih programa u području biomedicinsko-laboratorijske znanosti.

CILJ

Cilj rada bio je prikaz organizacije studijskih programa u području biomedicinsko-laboratorijske znanosti koji se izvode na sveučilištima u Velikoj Britaniji.

MATERIJALI I METODE

Materijal istraživanja predstavljaju odabrana sveučilišta u Velikoj Britaniji, koja u okviru biomedicinsko-laboratorijske znanosti nude razne studijske programe. Izvor svih potrebnih informacija i podataka bili su mrežni portali tih sveučilišta. Za istraživanje je korištena metoda deskripcije.

REZULTATI I ZAKLJUČAK

Za potrebe rada proučeni su studijski programi na sveučilištima Aberdeen, Brighton i Middlesex London u Velikoj Britaniji. Sustav sveučilišnog obrazovanja u Velikoj Britaniji uključuje preddiplomsku, diplomsku i postdiplomsku razinu. Studentima se nude razne mogućnosti odabira željenog stupnja diplome (BSc, BSc Hons, MSc, MRes), studijskog programa (Blood Sciences, Cellular Sciences, Infection Sciences...) te napredovanja u istraživačkoj i znanstvenoj karijeri (PhD). Otvorenost sveučilišta prema tržištu rada pruža široku paletu mogućih zaposlenja. Studiji su usklađeni sa suvremenim trendovima u znanosti i tehnologiji, prilagođeni zahtjevima tržišta rada kao i samim studentima. Pružaju brojne mogućnosti stručnog usavršavanja s tendencijom što dubljeg ulaganja u suštinu struke obrazujući studente tako da su odmah po završetku studija osposobljeni za rad u raznim biomedicinskim laboratorijima (npr. Cellular Pathology, Microbiology, Immunology, Hematology and Transfusion Science i sl.) kako u sustavu bolnica tako i u biomedicinskoj industriji te znanstvenim ustanovama. Također, svakom zainteresiranom i ozbiljnom kandidatu pružaju se svi uvjeti daljnjeg stručnog i znanstvenog usavršavanja. Studiji mogu biti redovni ili izvanredni, a u skladu s fleksibilnošću koju nude, studentima je omogućeno da, nakon što se bolje upoznaju s područjima izučavanja unutar studija, tijekom studija mogu mijenjati smjerove unutar srodnih područja. Sustav obrazovanja u Velikoj Britaniji nije poznat samo po svojim visokim akademskim kriterijima, već ga karakterizira i izuzetno visoka prilagodljivost koju nameću nova tehnologija, novi stilovi života kao i samo tržište rada.

KLJUČNE RIJEČI

Biomedicinsko-laboratorijska znanost, studijski programi, sveučilišta, Velika Britanija

UČESTALOST KARBAPENEMAZA PRODUCIRAJUĆIH SOJEVA *K.PNEUMONIAE* IZOLIRANIH IZ URINA PRIJE, ZA VRIJEME I NAKON PANDEMIJE COVID-19

MARIJA LOVRIĆ¹, Filipa Merčep¹, Paul Bohnert¹, Zvonimir Barišić¹, Vanja Kaliterna¹

¹Nastavni zavod za javno zdravstvo Splitsko-dalmatinske županije, Split, Hrvatska
marija.lovric96@gmail.com

UVOD

Rastuća antimikrobna rezistencija u današnje vrijeme jedna je od najozbiljnijih prijetnji javnom zdravstvu. Porastu rezistencije na antibiotike doprinosi neodgovarajuće, prekomjerno ili pak nepotrebno korištenje antibiotika. Opsežna upotreba karbapenema rezultirala je brzim širenjem sojeva koji proizvode karbapenemaze. Karbapenemaze koje uzrokuju stečenu rezistenciju na karbapeneme spadaju u grupe A, B i D po molekularnoj strukturi. Najveće kliničko značenje imaju KPC β - laktamaze koje se pojavljuju u *Klebsiella spp* i u drugih enterobakterija (engl. CRE - *carbapenemase producing enterobacteria*) i imaju potencijal epidemijskog širenja.

CILJ

Cilj ovog retrospektivnog istraživanja bio je usporediti učestalost karbapenemaza producirajućih sojeva *K.pneumoniae* izoliranih iz urina prije, za vrijeme i nakon pandemije Covid-19 budući da je globalna pandemija utjecala na mnoge segmente kako dijagnostike drugih bolesti, tako i liječenja istih.

MATERIJALI I METODE

Istraživanje je provedeno na Odjelu za dijagnostiku infekcija mokraćnog sustava Službe za kliničku mikrobiologiju Nastavnog zavoda za javno zdravstvo Splitsko-dalmatinske županije. Rezultati su dobiveni pretraživanjem arhive nalaza u internom programu u razdoblju od 2018. do 2022.godine te je potom napravljena statistička obrada.

REZULTATI I ZAKLJUČAK

U 2018. godini 26 uzoraka od ukupnog broja 67 891, odnosno 0,04% ,bili su karbapenem rezistentni sojevi *K.pneumoniae*. Godinu iza, taj broj se udvostručio, odnosno 0,08% su bili karbapenemaza producirajući sojevi *K.pneumoniae* (u nastavku CRE). U brojkama bi to bila 53 uzorka od ukupnog broja uzoraka za 2019. godinu koji je iznosio rekordnih 68 600 uzoraka. U 2020. godini unatoč padu ukupnog broja uzoraka na 53 252, broj CRE uzoraka iznosi 84, odnosno 0,16%. 2021. godine je u 171 uzorku izoliran CRE, što bi bilo 0,28% od ukupnog broja 61 235 urina te godine. U 2022. godini, broj CRE uzoraka bio je 70, odnosno 0,11% od 64 221 obrađenog urina. Zaključili smo kako je postotak karbapenemaza producirajućih sojeva *K.pneumoniae* bio veći u godinama najveće pandemije bolesti Covid-19 u odnosu na godine prije i godinu 2022. kada je pandemija počela slabiti. Naime, unatoč smanjenju ukupnog broja zaprimljenih uzoraka urina u godinama 2020. i 2021., ukupan broj CRE uzoraka se povećao, a postotak je rastao eksponencijalno. U godini 2022. ukupan broj CRE uzoraka se smanjio kao i sam postotak. Iz svega navedenog nameće se zaključak kako je porast upotrebe antibiotika u vrijeme pandemije Covid-19, posljedično uzrokovao i porast broja CRE uzoraka.

KLJUČNE RIJEČI

karbapenemaze, *Klebsiella pneumoniae*, Covid-19

ANTIFUNGAL SUSCEPTIBILITY TESTING OF THE MOST-RELEVANT PATHOGENIC MOULDS

AMALIJA LUKIĆ, Kristina Rogalo, Ana Pešut

KBC ZAGREB, Zagreb, Hrvatska
amaliya.lukic88@gmail.com

INTRODUCTION

The number of fungal infections has significantly grown in recent decades, primarily due to an increase in the population of immunocompromised individuals. The limited availability of antifungal medications and the rising reports of fungal resistance to them pose major challenges in the pharmacotherapy of systemic mycoses. In this context, the antifungal susceptibility testing of the most-relevant pathogenic moulds plays a crucial role in identifying effective treatment options.

GOAL

The objective of this study is to evaluate the susceptibility of clinically important moulds to antifungal medications. By conducting antifungal susceptibility testing, we aim to assess the effectiveness of available antifungal agents against these pathogenic moulds and identify any emerging patterns of resistance.

METHODS

Antifungal susceptibility testing was performed using the broth microdilution method, which is a widely accepted and standardized technique recommended by organizations such as the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) and the European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). The method involved preparing a series of doubling dilutions of the antifungal agent in a liquid growth medium. Fungal isolates were inoculated into microtiter plates containing the drug dilutions and incubated under appropriate conditions. The minimum inhibitory concentration (MIC), defined as the lowest concentration of the antifungal agent that completely inhibits visible growth of the fungus, was determined for each mould species.

CONCLUSION

The results of the antifungal susceptibility testing revealed varying susceptibility profiles among the clinically important moulds. *Aspergillus species*, including the most common *Aspergillus fumigatus*, showed a range of susceptibility to different antifungal agents. Mucorales, *Fusarium species*, and exhibited variable susceptibility patterns, with certain strains showing resistance to multiple antifungal agents. These findings emphasize the importance of tailored antifungal therapy based on the susceptibility profiles of specific mould isolates. In conclusion, the antifungal susceptibility testing of clinically important moulds provides valuable insights into the effectiveness of available antifungal medications and the emergence of resistance. This information is crucial for guiding treatment decisions and improving patient outcomes in the management of fungal infections.

KEY WORDS

antifungal susceptibility, aspergillus, minimal inhibitory concentration, fungal resistance

ANTAGONISTIČKI UČINAK *STREPTOCOCCUS SALIVARIUS* K 12 NA RAZVOJ VIRULENTNOG DENTALNOG BIOFILMA

GABRIJELA BEGIĆ¹, Ivana Jelovica Badovinac², Ljerka Karleuša³, Kristina Kralik⁴,
Olga Cvijanovic Pelozza⁵, Davor Kuiš⁶, Ivana Gobin⁷

¹ Zavod za mikrobiologiju i parazitologiju, Medicinski fakultet, Sveučilište u Rijeci, Rijeka, Hrvatska

² Odjel za fiziku i Centar za mikro- i nanoznanosti i tehnologije, Sveučilište u Rijeci, Rijeka Hrvatska

³ Zavod za fiziologiju, imunologiju i patofiziologiju, Medicinski fakultet, Sveučilište u Rijeci, Rijeka, Hrvatska

⁴ Katedra za medicinsku statistiku i medicinsku informatiku, Medicinski fakultet, Sveučilište J. J. Strossmayer u Osijeku, Osijek, Hrvatska

⁵ Zavod za anatomiju, Medicinski fakultet, Sveučilište u Rijeci, Rijeka, Hrvatska

⁶ Katedra za oralnu medicinu i parodontologiju, Fakultet dentalne medicine, Sveučilište u Rijeci, Rijeka, Hrvatska

⁷ Zavod za mikrobiologiju i parazitologiju, Medicinski fakultet, Sveučilište u Rijeci, Rijeka, Hrvatska

gabrijela.begic@uniri.hr

UVOD

Zubni karijes i parodontitis su bolesti uzrokovane disbiozom bakterijskog biofilma koji raste na površini zuba. Narušena ravnoteža unutar dentalnog biofilma rezultira dominacijom kariogenih i parodontopatogenih vrsta te razvojem bolesti. *Streptococcus mutans* se smatra glavnim mikroorganizmom povezanim s razvojem zubnog karijesa. Bakterijske vrste u dentalnom biofilmu povezane s oboljelim parodontnim tkivima su: *Porphyromonas gingivalis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Tannerella forsythia* i *Prevotella intermedia*. Bakterije koje preživljavaju i rastu unutar biofilma pokazuju otpornost na visoke koncentracije antibiotika. Rezistencija na antibiotike je rezultat kombinacije različitih mehanizama otpornosti unutar biofilma. Zbog neuspjeha u farmakološkom liječenju biofilm infekcija, značajan je preventivni pristup promicanja zdrave oralne mikrobiote.

CILJ

Proširiti znanstvene spoznaje o interakcijama unutar dentalnog biofilma. Stoga smo ispitali utjecaj *Streptococcus salivarius* K12 na razvoj miješanog biofilma *S. mutans*, *S. oralis* i *A. actinomycetemcomitans* na hidroksiapatitu i dentinu.

MATERIJALI I METODE

Korišten je model miješanog biofilma sa ili bez bakterijske vrste *S. salivarius* K12. Kvantificirane su ukupne bakterije, pojedine vrste i njihov udio u miješanom biofilmu. Napravljena je kvalitativna analiza miješanog biofilma pomoću skenirajuće elektronske mikroskopije (SEM). Konfokalnom laserskom skenirajućom mikroskopijom (CLSM) ispitana je vijabilnost bakterijskih stanica te strukturna organizacija egzopolisaharidnog (EPS) matriksa u miješanom biofilmu.

REZULTATI I ZAKLJUČAK

Rezultati su pokazali da je u prisustvu *S. salivarius* K 12 u početnom stadiju razvoja biofilma, smanjen udio *S. mutans*, što je rezultiralo inhibicijom razvoja mikrokolonija, matriksa bogatog EPS-om i složene trodimenzionalne strukture biofilma. U zreom biofilmu utvrđen je značajno manji udio parodontopatogene vrste *A. actinomycetemcomitans* u *salivarius* biofilmu. Naši rezultati pokazuju da *S. salivarius* K 12 može inhibirati rast patogena u dentalnom biofilmu i pomoći u održavanju fiziološke ravnoteže u oralnom mikrobiomu.

KLJUČNE RIJEČI

A. actinomycetemcomitans; *Streptococcus salivarius* K12 dentalni biofilm; dentin; hidroksiapatit;

ZDRAVSTVENO-HIGIJENSKI ZNAČAJ MONITORINGA MIKOTOKSINA - DIJAGNOSTIČKI PRISTUP

AMIR IBRAHIMAGIĆ

Institut za zdravlje i sigurnost hrane Zenica, Komora medicinsko-laboratorijskih dijagnostičara FBiH, Bosna i Hercegovina
ibrahimagic.amir@gmail.com

UVOD

Mikotoksini nastaju metaboličkim procesima i mogu biti toksični ili imati druge negativne biološke efekte za ljude ili životinje. Ovi toksini ulaze u prehrambeni lanac čovjeka i životinja direktnom ili indirektnom kontaminacijom. Poznato je da ukoliko životinje konzumiraju kontaminiranu stočnu hranu sa aflatoksinom B1 (AFLB1), procesom metabolizma, aflatoksin B1 pretvara se u aflatoksin M1 (AFLM1), koji se dalje izlučuje putem mlijeka i ulazi u lanac ljudske ishrane konzumiranjem mlijeka i mliječnih proizvoda. Mikotoksini su otrovi visoke toksične sposobnosti, a mogu imati kancerogena, mutagena, imunotoksična i teratogena svojstva.

CILJ

Predstaviti značaj i potrebu za monitoringom mikotoksina u svim fazama proizvodnje, tj. od polja do trpezarijskog stola.

MATERIJALI I METODE

Tijekom 2021-2022. ukupno 505 uzoraka (105 uzoraka mlijeka, 110 uzoraka jogurta, 110 uzoraka sira i 180 uzroka hrane za životinje) analizirano je na aflatoksine AFM1 i AFB1 pomoću enzimskog imunoeseja (ELISA).

REZULTATI I ZAKLJUČAK

Od 105 uzoraka mlijeka, AFM1 bio je prisutan u 104 uzorka (prosječna vrijednost 0,039; u rasponu 0,000 – 0,270 µg/kg). Dvadeset osam uzoraka mlijeka (n=104; 26,9%) imalo je višu koncentraciju (prosječna vrijednost 0,097; u rasponu 0,049-0,270 µg/kg) od maksimalne razine utvrđene nacionalnim zakonodavstvom (0,05 µg/kg). Od 110 uzoraka jogurta, u 89 je potvrđena koncentracija AFLM1 (prosječna vrijednost 0,041; u rasponi 0,006 – 0,608 µg/kg). Pet uzoraka jogurta je imalo povišenu koncentraciju AFLM1, iznad 0,1 µg/kg u skladu sa referentnom vrijednošću većine zemalja EU. Koncentracija AFLM1 u uzorcima sira se kretala u rasponu od 0,000 – 0,738 µg/kg (prosječna vrijednost 0,029 µg/kg). U tri uzorka sira zabilježena su velika odstupanja ili velike koncentracije AFLM1 (0,433, 0,433 i 0,738 µg/kg) u odnosu sa referentnom vrijednošću većine zemalja EU (0,25 µg/kg). U isto vrijeme, aflatoksin B1 bio je prisutan u 179 uzoraka (prosječna vrijednost 4,953; u rasponu 0,000-114.654 µg/kg). Četrdeset i dva uzorka bila su kontaminirana AFB1 iznad referentnih vrijednosti u EU (srednja vrijednost 14,922; u rasponu 5,100-114,654; referentna vrijednost <5 µg/kg). U pojedinim zemljama, članicama EU uvedeni su nacionalni propisi koji definišu referentne vrijednosti za pojedine proizvode namijenjene za ljudsku ishranu, dok u našoj zemlji, još uvijek ne postoji regulativa niti propisane referentne vrijednosti za mikotoksine npr. za mliječne proizvode kao što su sir, jogurt, pavlaka i sl. Kako bi se suzbila koncentracija mikotoksina na najmanju razinu, potrebno je staviti pod redovni nadzor i kontrolu detekcije plijesni i to u svim fazama proizvodnje, od prikupljanja, transporta, obrade, skladištenja i prodaje hrane na kojima mogu rasti i opstati.

KLJUČNE RIJEČI

One Health, sanitarna kemija i mikrobiologija, aflatoksini

MIKROBIOLOŠKA OBRADA KRONIČNOG PROSTATITISA METODOM 5 ČAŠA

VLASTA KRENAJZ¹, Lidija Žele Starčević¹, Luka Penezić², Ana Budimir¹

¹ KBC Zagreb, klinički zavod za kliničku mikrobiologiju, prevenciju i kontrolu infekcija, Zagreb, Hrvatska

² KBC Zagreb, Klinika za urologiju, Zagreb, Hrvatska

vkrenajz@kbc-zagreb.hr

UVOD

Kronični prostatitis je upalna bolest prostate koja se pretežito javlja kod mladih muškaraca. Očituje se bolovima u zdjelici te poteškoćama s mokrenjem. National Institutes of Health sindrom prostatitisa je podijelio u 4 skupine: Akutni prostatitis, Kronični bakterijski prostatitis, Kronični nebakterijski prostatitis/Sindrom kronične zdjelice boli te Asimptomatski prostatitis. Podjela se temelji na kliničkom testu 4 čaše, ali s obzirom na kompliciran način izvođenja, on se može zamijeniti testom 2 čaše koji je jednostavniji za kliničara i pacijenta. Uloga mikrobiološke obrade ejakulata je kontroverzna te se preporuča samo u posebnim slučajevima.

CILJ

Cilj ovoga rada je pokazati naša iskustva u mikrobiološkoj dijagnostici kroničnog prostatitisa koristeći tehniku 5 čaša. Proveli smo prospektivno istraživanje kod pacijenata pregledanih u Ambulanti za upalne bolesti prostate Centra za prostatu KBC Zagreb u razdoblju od veljače 2017. do veljače 2022. godine. U istraživanje su uključeni svi pacijenti kojima je učinjena mikrobiološka obrada. Dijagnostika kategorije prostatitisa temelji se na mikrobiološkoj analizi uzoraka prema ISKRA smjernicama, uz dodatak analize ejakulata kao pete čaše. Uzorci su suzimani prema shemi: prvi jutarnji mlaz urina – urin 1, drugi mlaz urina tj. urin prije masaže prostate – pre M, eksprimat prostate – EPS, urin nakon masaže prostate – post M te ejakulat.

MATERIJALI I METODE

Proveli smo prospektivno istraživanje kod pacijenata pregledanih u Ambulanti za upalne bolesti prostate Centra za prostatu KBC Zagreb u razdoblju od veljače 2017. do veljače 2022. godine. U istraživanje su uključeni svi pacijenti kojima je učinjena mikrobiološka obrada. Dijagnostika kategorije prostatitisa temelji se na mikrobiološkoj analizi uzoraka prema ISKRA smjernicama, uz dodatak analize ejakulata kao pete čaše. Uzorci su suzimani prema shemi: prvi jutarnji mlaz urina – urin 1, drugi mlaz urina tj. urin prije masaže prostate – pre M, eksprimat prostate – EPS, urin nakon masaže prostate – post M te ejakulat.

REZULTATI I ZAKLJUČAK

Mikrobiološka analiza učinjena je kod 243 pacijenta. Prosječna dob pacijenta je bila 46,6 godina (raspon od 21 do 73 godine). Sveukupno je uzeto 450 uzoraka koji su mikrobiološki obrađeni. Temeljem dijagnostičkih kriterija dijagnosticirano je 9 akutnih bakterijskih prostatitisa, 13 kroničnih bakterijskih prostatitisa, 74 kroničnih nebakterijskih prostatitisa, jedan asimptomatski prostatitis, 7 pacijenata imala su pozitivnu Ureaplazmu i 4 pacijenata imala su akutnu upalu, dok je kod 140 pacijenata isključena dijagnoza prostatitisa. Obzirom na kompliciranu dijagnostiku, smatramo kako je svaka dodatna informacija korisna, pa tako i uključivanje analize ejakulata u rutinski dijagnostički postupak.

KLJUČNE RIJEČI

Akutni prostatitis, Kronični nebakterijski prostatitis/Sindrom kronične zdjelice Asimptomatski prostatitis.

DIJAGNOSTIKA TUBERKULOZE- PROŠLOST, SADAŠNJOST I BUDUĆNOST

MANDA MARKANOVIĆ

Klinički zavod za kliničku mikrobiologiju, prevenciju i kontrolu infekcija, KBC Zagreb, Zagreb 10 000, Hrvatska
manda.markanovic470@gmail.com

Dijagnostika tuberkuloze je prošla dug put od svojih početaka pa sve do danas. Pretpostavlja se da je rod *Mycobacterium* nastao prije više od 150 milijuna godina. Zbog infektivnosti uzročnika, složenog imunološkog odgovora, kroničnog progresivnog tijeka bolesti i potrebe za dugotrajnim liječenjem, tuberkuloza je oduvijek bila veliki zdravstveni problem.

Prekretnicom u medicinskoj mikrobiologiji smatra se 24. ožujka 1882. kada je njemački bakteriolog Robert Koch u Berlinskom Institutu za fiziologiju prikazao znanstvene dokaze o identifikaciji, kultivaciji i prijenosu *M. tuberculosis*.

Brza dijagnostika i učinkovito liječenje ključni su čimbenici koji smanjuju infektivnost oboljelih od tuberkuloze i sprječavaju širenje bolesti. Zbog rastuće učestalosti netuberkuloznih mikobakterija čije se liječenje razlikuje od *M. tuberculosis* te se uglavnom ne šire interhumanim prijenosom, mikrobiološka dijagnostika mikobakterija je od velike važnosti kod imunokompromitiranih bolesnika, primatelja solidnih organa, kod alogene transplantacije krvotvornih matičnih stanica, bolesnika na biološkoj terapiji te kod bolesnika koji su na dugotrajnoj terapiji kortikosteroidima.

Mikroskopija, kultivacija i molekularni testovi su trenutno tri glavne validirane metode za otkrivanje aktivne tuberkuloze. Zlatni standard u dijagnostici tuberkuloze je i dalje kultivacija mikobakterija. Uz tradicionalne metode uvedene su nove molekularne metode koje omogućuju bržu, pouzdaniju i osjetljiviju dijagnostiku tuberkuloze. Zbog potrebe za bržim i jeftinijim testovima u usporedbi s kultivacijom i molekularnim testovima, danas se istražuju nove metode dijagnostike. Istraživanja su posebno usmjerena na biomarkere domaćina i patogena a proučavaju se specifični biomarkeri prisutni u urinu, krvi i slini. Dijagnostika tuberkuloze na temelju biomarkera se smatra brzom, neinvazivnom metodom koja bi se mogla koristiti za rano otkrivanje bolesti.

Velika pažnja se pridaje otkrivanju metabolita *M. tuberculosis* u izdahnutom zraku kako bi se identificirali hlapljivi organski spojevi (VOC), ali dosadašnji rezultati ne zadovoljavaju potrebnu osjetljivost i specifičnost.

Postojeći serološki testovi koji se koriste u dijagnostici tuberkuloze privlačni su zbog svoje jednostavnosti, cijene i nedostatka obrade uzorka, ali ih Svjetska zdravstvena organizacija ne preporučuje. Trenutno je puno istraživanja usmjereno i na transkripcijske markere domaćina, kako bi se razlikovala aktivna od latentne tuberkuloze kod djece i odraslih, pri čemu se mjeri razina ekspresije mRNA.

Dijagnostika tuberkuloze je značajno napredovala u posljednjim desetljećima, omogućujući razvoj novih dijagnostičkih metoda. U budućnosti se očekuje daljnji napredak u tehnologijama i pristupima te više ulaganja za otkrivanje, validaciju i translaciju novih dijagnostičkih metoda u kliničku primjenu.

VALIDACIJA I UVOĐENJE MILESTONE TKIVNOG PROCESORA U RUTINSKI RAD NA ODJELU PATOLOGIJE KBC-A SPLIT

ANTONIO BARAĆ

Odjel za patologiju, Klinički zavod za patologiju, sudsku medicinu i citologiju, KBC Split, Split, Hrvatska
antoniobarac2407@gmail.com

UVOD

Suvremena patohistološka djelatnost zahtijeva brzu i kvalitetnu obradu tkivnih isječaka, te preciznu i pravovremenu dijagnostiku. Zbog rastućih zahtjeva, ovo područje medicinsko-laboratorijske djelatnosti treba inovacije koje mogu pružiti kvalitetnu i suvremenu zdravstvenu zaštitu pacijenata. Milestone Logos tkivni procesor pruža mogućnost fiksacije unutar komore uređaja, bez odgode zbog ostavljanja tkiva u dofixaciji do sljedećeg radnog dana. Taj proces se odvija u formalinu te je potaknut suvremenom metodom djelovanjem mikrovalova koja omogućuje fiksaciju svježe preuzetih isječaka tkiva. Koristi komercijalne reagense bez potrebe za prelijevanje istih prilikom izmjene. Intuitivan izgled ekrana omogućuje jednostavnije upravljanje uređajem, te svaki korisnik upravlja programom vlastitom prijavom u sustav. Tijekom procesuiranja tkiva ne koristi se ksilol kao agens za pročišćavanje prije impregnacije parafinom. Ima mogućnost automatskog uklapanja (Synergy) uz korištenje komercijalnih silikonskih blokova koji su nakon procesuiranja i hlađenja spremni za rezanje. Nadalje, prekonočno procesuiranje i automatsko uklapanje se mogu odvijati paralelno s obzirom na dvije fizički odvojene komore.

CILJ

S obzirom na navedene značajke ovog tkivnog procesora u smislu suvremene obrade tkiva te prednosti koje pruža u patohistološkoj dijagnostici (vrijeme i kvaliteta fiksacije te automatsko uklapanje), pokrenut je proces validacije kako bi uređaj postao dio rutinskog rada na Odjelu patologije KBC-a Split.

MATERIJALI I METODE

Tijekom procesa validacije, tkiva koja su u dotadašnjem radu zahtijevala dofixaciju, išla su u rad tekućeg dana. Nakon prekonočnog procesuiranja, materijali su uklapani standardnim radnim protokolom, izrezana te su dobivena mikroskopska stakalca bojana metodom hemalaun-eozin (H&E). Svako mikroskopsko stakalce je predavano specijalistima patolozima koji su ih uspoređivali u odnosu na stakalca dobivena nakon klasične tkivne obrade, te su ocjenjivala obojana stakla u smislu kvalitete bojanja i mogućnosti postavljanja dijagnoze. Na isti način se je i validirao proces automatskog uklapanja.

REZULTATI I ZAKLJUČAK

Tijekom procesa validacije prekonočnog programa i programa automatskog uklapanja, najveći problem je predstavljalo raspadanje rezova na vodenoj kupelji. To je zahtijevalo prilagodbu (produžavanje) vremena impregnacije parafinom i svih ostalih koraka procesuiranja tkiva kako bi isjecci bili zadovaljavajuće kvalitete. Nakon spomenutog, nije bilo većih problema tijekom rezanja, a patolozi nisu primijećivali razliku u kvaliteti obojanih mikroskopskih stakalaca u odnosu na dotad klasični način procesuiranja tkiva. Konačno, Milestone tkivni procesor je uveden u rutinski rad na Odjelu patologije KBC-a Split. Zbog komercijalnih reagenasa spremnih za korištenje i nekorštenja ksilola u koraku pročišćavanja, laboratorijski djelatnici su sigurniji u radu. Mogućnost fiksacije tekuće preuzetih isječaka tkiva te modul automatskog uklapanja omogućuju bržu patohistološku dijagnostiku, uz poštivanja svih ostalih standardnih operativnih postupaka i dobre laboratorijske prakse (primjerena debljina preuzetih isječaka).

KLJUČNE RIJEČI

patohistologija, automatsko uklapanje, fiksacija

DIJAGNOSTIČKI ZNAČAJ EBUS-TBNA (ENDOBRONHALNI ULTRAZVUK - TRANSBRONHALNA ASPIRACIJA IGLOM) U KLINIČKOJ CITOLOGIJI

SANDRA ŠLEGL, Nevena Radičević, Ankica Vasilj

KBC Sestre milosrdnice, Klinički zavod za patologiju i citologiju „Ljudevit Jurak“, Zagreb
sandraslegl@yahoo.de

UVOD

EBUS-TBNA je invazivna metoda kojom se uz pomoć endobronhalnog ultrazvuka i ultrazvučnog konveksnog bronhoskopa pregledavaju, te punktiraju limfni čvorovi. Sama punkcija se koristi za postavljanje citološke dijagnoze uvećanih limfnih čvorova u medijastinumu (npr. metastaze, limfomi, granulomatozna lezija, i slično.)

CILJ

Ukazati na važnost uvođenja EBUS-TBNA.

MATERIJALI I METODE

Uz pomoć EBUS/TBNA-a punktiraju se limfni čvorovi pomoću transbronhalne aspiracijske ili biopsijske igle. Nakon toga se uzorak razmazuje na predmetna stakalca. Preparati se nakon toga suše na zraku i bojaju po May-Grunwald metodi bojanja, te mikroskopiraju. Zatim se, ako je potrebno, radi dodatna citokemija i imunocitokemija.

REZULTATI I ZAKLJUČAK

U razdoblju u prva 4 mjeseca, od kada je metoda uvedena, napravljeno je 28 punkcija pod kontrolom EBUS-a. Kod pojedinih pacijenata je punktirano više limfnih čvorova. Samo jedan uzorak je bio oskudan, a u ostalim uzorcima dijagnosticirani su reaktivna hiperplazija, granulomatozna lezija, metastaze karcinoma i limfomi. Dobivenim nalazima se utvrdila važnost citološke dijagnostike pri EBUS-TBN-a. Sama metoda je brza i učinkovita u postavljanju dijagnoze karcinoma kao i sumnje na proširenost maligne bolesti.

KLJUČNE RIJEČI

ebus-tbna, citologija, limfni čvor, dijagnostika

PRIMJENA MASENE CITOMETRIJE U DETEKCIJI BIOMARKERA U PREKANCEROZNYM LEZIJAMA VRATA MATERNICE

ENA PEŠUT¹, Ivana Šimić¹, Rajko Fureš², Ivana Erceg Ivkošić³, Nina Milutin Gašperov¹, Ivan Sabol¹

¹ Institut Ruđer Bošković, Zagreb, Hrvatska

² Opća bolnica Zabok, Fakultet za dentalnu medicinu i zdravstvo Osijek

³ Specijalna bolnica Sveta Katarina, Fakultet za dentalnu medicinu i zdravstvo Osijek

epesut@irb.hr

UVOD

Rak vrata maternice (RVM) jedna je od najčešćih zloćudnih bolesti u ženskoj populaciji. Nastanku RVM-a prethode prekancerozne promjene koje se u citologiji nazivaju skvamozne intraepitelne lezije (SIL) i dijele se u dva stupnja: skvamozne intraepitelne lezije niskog stupnja (LSIL) i visokog stupnja (HSIL). Kasnije je uvedena i siva zona interpretacije citoloških nalaza koja predstavlja dvosmislene abnormalnosti pločastih stanica u koju spada kategorija atipičnih skvamoznih stanica neodređenog značaja (ASCUS). RVM i SIL povezani su s infekcijom visokorizičnim tipovima humanog papiloma virusa (HPV) koja se prenosi spolnim putem i odgovorna je za više od 95% slučajeva RVM-e. Iako za RVM postoji program prevencije poput cijepljenja protiv HPV-a, citoloških i molekularnih testova, ipak postoje razna ograničenja. Veliki je problem što se trenutno koristi prag liječenja HSIL lezija unatoč činjenici da veliki postotak spontano regresira te da samo 30-50% razvije invazivni rak tijekom dugog vremenskog razdoblja. Dolazi do nepotrebnog skupog liječenja i komplikacija te metode probira ponekad nisu dovoljno osjetljive i specifične. Nužna je potreba za boljim trijažnim biomarkerima i uvidom u proteinski profil prekanceroznih lezija vrata maternice te novim metodama koje će omogućiti bolja istraživanja RVM-e. Masena citometrija je metoda koja omogućuje paralelnu identifikaciju biljega na pojedinačnim stanicama kombinacijom protočne citometrije i masene spektrometrije s izotopima teških metala.

CILJ

Cilj istraživanja je bio analizirati proteinski profil stanica ovisno u stupnju prekancerozne cervikalne promjene i prisutnošću HPV-a masenom citometrijom.

MATERIJALI I METODE

Istraživanje se provelo na brisevima vrata maternice koji su stavljeni medij za tekućinsku citologiju (LBC, eng. liquid based cytology) te na tumorskim staničnim linijama. Tumorske stanične linije su predstavljale kontrole za proteine od interesa. Cervikalne briseve je analizirao citolog i podijeljeni su u kategorije NORMAL (bez abnormalnih promjena, HPV negativni), NORMAL (bez abnormalnih promjena, HPV pozitivni), LSIL, ASCUS I HSIL. Ukupno je analizirano 49 cervikalnih briseva. Korištene eksperimentalne metode u istraživanju su detekcija HPV-a uz pomoć PCR-a te istovremeno ispitivanje ekspresije panela 29 proteina pomoću masene citometrije. Analiza podataka se obradila pomoću statističkih programa te FlowJo™ v10 Software.

REZULTATI I ZAKLJUČAK

Prema našim saznanjima prvi put je korištena masena citometrija u citologiji te se pokazala prikladnom za analizu novih potencijalnih biomarkera na brisevima vrata maternice pohranjenim u LBC medij te na tumorskim staničnim linijama. Ekspresija određenih proteina se statistički značajno razlikovala s obzirom na težinu prekancerozne lezije i HPV status. Analiziranje novih biomarkera otvara mogućnost usmjeravanja daljnjih istraživanja potencijalnih razlika u staničnoj signalizaciji prilikom nastanka RVM-e, regresije lezija te promjena koje su povezane s utjecajem virusa na razvoj raka.

KLJUČNE RIJEČI

rak vrata maternice; HPV; masena citometrija; biomarker

NOVE BIOPTIČKE TEHNIKE I VAŽNOST PRAVILNE PRIPREME UZORAKA TKIVA

**MARIJA DODIG¹, Stanislava Didić-Ilijaš¹, Martina Abramović¹, Lucija Azinović¹,
Tatjana Kovačević¹, Ana Mataić¹, Sven Seiwert²**

¹ KBC Zagreb, Zagreb, Hrvatska

² Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

dodigica@hotmail.com

UVOD

Patohistološka analiza uzoraka tkiva predstavlja zlatni standard u dijagnostici nemalighnih i malignih bolesti. Temeljni elementi uspjeha analize su lokacija uzimanja uzorka, tj njegova reprezentativnost (ciljana lezija bez drugih promjena tkiva kao što je krvarenje i nekroza), te sačuvanost/prezerviranost uzorka, njegova kvaliteta u momentu dolaska na odjel patologije. Što manja manipulacija nakon uzimanja uzorka i njegova pravilna fiksacija. U dijagnostici malignih i nemalighnih bolesti toraksa najčešći uzorci za analizu su tumori pleure, pluća, medijastinuma i netumorske bolesti pluća.

CILJ

Predstaviti nove bioptičke tehnike uzorkovanja tkiva toraksa, manje invazivne za pacijenta, njihov način obrade uzorka i način izrade patohistološkog preparata u laboratoriju.

MATERIJALI I METODE

Standardne metode za dobivanje patohistoloških uzoraka u analizi tkiva toraksa su bronhoskopska biopsija, transbronhalna biopsija i otvorena kirurška biopsija. Kod bronhoskopskih metoda kreiraju se vrlo nježni uzorci koji se smatraju najzahtjevnijima za pripremu, dok se kod otvorene kirurške biopsije uzimaju veliki uzorci (klinasta resekcija). Cilj novih bioptičkih tehnika je sa što manje agresivnosti dobiti dovoljno reprezentativan uzorak. To su VATS – video asistirana torakoskopija, medijastinoskopija i torakoskopija. Uporabom iglenih biopsija javio se najnoviji pomak kod uzorkovanja toraksa. U zahvatima se prije koristila aspiracijska biopsija tankom iglom kojim se stvara citološki uzorak. Sada se koriste bioptičke igle. Bioptički cilindar poznat je iz biopsija drugih organa (dojka, bubreg, jetra i prostata), a njegova uporaba u patologiji toraksa još je relativno nova.

REZULTATI I ZAKLJUČAK

S tehnološkog aspekta u biopsijama su bioptički cilindri puno problematičniji od malih biopsija kao onih dobivenih bronhoskopijom. Najveći problem predstavlja njihova veličina. Kao prvo potrebno ih je uklopiti u parafinski blok tako da cijeli rez ide čitavom dužinom. Bioptički cilindri toraksa sklone su i fragmentaciji. Zbog toga dio materijala može se izgubiti, a gubi se i informacija o prostornom međuodnosu elemenata tkiva. Iz tih razloga bioptički cilindri zahtijevaju pažnju svih uključenih u analizu – od bioptičara i njegovog asistenta pa do tehničara/inženjera koji preuzete uzorke uklapa, reže i boji. U odnosu na biopsije ostalih organa kod kojih je iglena biopsija provjerena i utvrđena, parenhim pluća je puno nježniji i krhkiji, što dodatno otežava manipulaciju i rukovanje uzorkom. To također vrijedi i za uzorkovanje medijastinalne strukture. Zbog tih razloga u dobro organiziranom procesu bioptički cilindar se odmah pri uzorkovanju stavlja u kasetu, te se njime više ne manipulira do rezanja. Za to bi se trebale upotrebljavati posebno dizajnirane kazete koje osiguravaju minimalno oštećenje uzorka.

KLJUČNE RIJEČI

biopsija, pluća, toraks, histokemija, imunohistokemija, VATS

IMUNOHISTOKEMIJSKA EKSPRESIJA ERG U BIOPSIJAMA PROSTATE IGLOM I UZORCIMA PROSTATEKTOMIJE ISTIH BOLESNIKA

JELENA BARAĆ ŽUTELIJA¹, Antonela Barać², Marina Bakula³, Božo Krušlin¹

¹ KBC SESTRE MILOSRDNICE, Zagreb, Hrvatska

² Medicinski fakultet

³ KBC Osijek, Osijek, Hrvatska

jelena.barac@kbcsm.hr

UVOD

Karcinom prostate je jedan od najčešćih i najzloćudnijih tumora u muškaraca u Hrvatskoj s više od 2800 novodijagnosticiranih tumora godišnje. Obično se pojavljuje u starijih od 50 godina, te prema podacima iz literature 5-10% karcinoma prostate ima gensku podlogu. Materijal dobiven biopsijom iglom, transuretralnom resekcijom ili prostatektomijom valja analizirati mikroskopski i odrediti histološki tip, postotak tumora, Gleason zbroj i skupinu gradusa te T stadij što je važno zbog daljnje terapije i prognoze. Fuzija gena *TMPRSS2-ERG* je najčešća genska promjena u karcinomu prostate i rezultira prekomjernom ekspresijom transkripcijskog čimbenika ERG koji se nalazi i u ranim i kasnijim stadijima karcinoma prostate. *TMPRSS2-ERG* gen se nalazi u otprilike 50% svih karcinoma prostate. Međutim, funkcionalno i prognostičko značenje *TMPRSS2-ERG* još uvijek nije potpuno razjašnjeno. Neki su radovi pokazali povezanost imunohistokemijske ekspresije proteinskog produkta fuzijskog gena *TMPRSS2-ERG* i kraćeg preživljenja pacijenata s karcinomom prostate. Ekspresija ERG je također bila povezana s uznapredovalim stadijem tumora, visokim Gleason-ovim zbrojem, prisutnošću metastaza i visokim proliferacijskim indeksom određenim pomoću Ki67. Na temelju korelacije ekspresije ERG moglo bi se odrediti koji tumori zahtijevaju agresivnije liječenje.

CILJ

Odrediti ekspresiju ERG proteina u preparatima iglene biopsije prostate bolesnika s dijagnosticiranim karcinomom prostate i usporediti s ekspresijom u uzorcima tumora nakon radikalne prostatektomije istih bolesnika.

MATERIJALI I METODE

U ovom radu su analizirani podaci 50 bolesnika s adenokarcinomom prostate kojima je učinjena biopsija prostate iglom i prostatektomija u razdoblju od 01. siječnja 2018. do 31. prosinca 2020. godine. Dob bolesnika uključenih u studiju bio je u rasponu od 55 do 86 godina starosti (medijan 68 godina). Imunohistokemijska reakcija na ERG određivala se semikvantitativno: do 25% pozitivnih tumorskih stanica (+), >25-50% (++), >50% (+++), te je svrstana u tri skupine; slabo, umjereno i jako pozitivna reakcija.

REZULTATI I ZAKLJUČAK

Nije utvrđena statistički značajna razlika u Gleason zbroju niti gradusu između bolesnika s povišenom izraženosti ERG i onih s negativnom imunohistokemijskom reakcijom ($p=0,55$) kao niti utvrđena povezanost između ekspresije ERG i nazočnosti kribriformnih formacija ($p=0,53$). U uzorcima biopsije iglom s pokazanom ekspresijom ERG-a imali su statistički značajno manji postotak karcinoma u uzorcima prostatektomije od onih koji ne pokazuju ekspresiju u biopsiji iglom ($p=0,02$). U uzorcima biopsije iglom s pokazanom ekspresijom ERG-a imali su statistički veću ekspresiju ERG-a (intenzitet i postotak) u preparatima prostatektomije od onih koji ne pokazuju ekspresiju u biopsiji iglom ($p<0,01$). Na temelju rezultata ovog rada može se zaključiti da je ekspresija ERG proteina povišena u 22% bolesnika u biopsiji iglom i 26% uzoraka analiziranih tumora nakon prostatektomije.

KLJUČNE RIJEČI

karcinom prostate, ERG ekspresija, Gleason zbroj, iglena biopsija, prostatektomija

EVALUACIJA GENEFUSION TESTA NA IDYLLA™ PLATFORMI ZA DETEKCIJU FUZIJE *ALK*, *ROS* I *MET* GENA U HISTOLOŠKIM I CITOLOŠKIM UZORCIMA

MATEA KOS

KB Dubrava, Zagreb, Hrvatska
matea.kos25@gmail.com

UVOD

Karcinom pluća jedan je od najčešće dijagnosticiranih vrsta karcinoma diljem svijeta. Histološki se dijeli na dvije velike skupine: karcinom pluća nemalih stanica (NSCLC, od eng. non-small cell lung cancer) i karcinom pluća malih stanica (SCLC, od eng. small cell lung cancer). NSCLC predstavlja 80-85% karcinoma pluća u svijetu, od kojih adenokarcinom pluća čini 40%, 25-30% karcinom pluća pločastih stanica te 10-15% čine karcinomi velikih stanica. Jedan od glavnih uzroka NSCLC su kromosomske translokacije te je njihova brza i točna dijagnoza ključna za učinkovito liječenje.

CILJ

Međunarodne smjernice od strane ESMO i NCCN preporučuju testiranje na *ALK*, *ROS1*, *RET*, *MET* i *NTRK* mutacije kod svakog pacijenta sa dijagnosticiranim NSCLC-om. Stoga molekularno testiranje ima ključnu ulogu u dijagnostici kod NSCLC-a za usmjeravanje izbora terapije i produljenje životnog vijeka.

MATERIJALI I METODE

Za potrebe istraživanja učinjena je analiza rezultata fuzije *ALK*, *ROS* i *MET* gena na 6 histoloških uzoraka i 22 citološka razmaza pomoću GeneFusion testa na Idylla™ platformi. To je potpuno automatiziran in vitro test za kvalitativno otkrivanje specifičnih fuzija gena *ALK*, *ROS1*, *RET* te preskakanje *MET* eksona 14 i nebalansirane ekspresije za *ALK*, *ROS1*, *RET* i *NTRK 1/2/3* gena. Idylla™ GeneFusion Panel pokriva cijeli proces od uzorka do rezultata, uključujući u potpunosti integriranu ekstrakciju RNK i DNK, reverzne transkripcije mRNK, PCR amplifikaciju u stvarnom vremenu te otkrivanje, analizu podataka i rezultate.

REZULTATI I ZAKLJUČAK

U Kliničkoj bolnici Dubrava na Zavodu za patologiju i citologiju testirano je 28 histoloških i citoloških uzoraka, 22 uzorka dalo je negativan rezultat dok je 6 uzoraka bilo pozitivno. U jednom histološkom preparatu pronađena je fuzija i nebalansirana ekspresija *ALK* gena. U jednom citološkom razmazu je nađena fuzija *ALK* gena te u drugom razmazu nebalansirana ekspresija *ALK* gena. Nebalansirana ekspresija gena *NTRK1* pronađena je u jednom citološkom razmazu, dok je u jednom histološkom uzorku pronađena nebalansirana ekspresija gena *NTRK3*. Na jednom histološkom uzorku koji je imunohistokemijski *ROS1* bio pozitivan pronađeno je preskakanje eksona 14 *MET* gena. Ovaj test pokazao se pouzdanim i visoko osjetljivim s pozitivnim rezultatima na 20% tumorskih stanica. Brzo i lako rukovanje te rezultat već nakon 180 min daje veliku prednost nad uobičajenim molekularnim metodama.

KLJUČNE RIJEČI

karcinom pluća, NSCLC, *ALK*, *ROS1*, *MET*

PROCJENA RIZIKA NA RADNOM MJESTU SA ASPEKTA BIOLOŠKIH ŠTETNOSTI

JASMINA KIŠIJA-BAJRIĆ

JU Zavod za medicinu rada i sportsku medicinu ZE-DO kantona, Zenica, Bosna i Hercegovina
kisija.jasmina@gmail.com

UVOD

Zakonom o zaštiti na radu u FBiH radna okolina je definisana kao prostor u kome se obavlja rad, i uključuje mjesto rada, radne uvjete, radne postupke i odnose u procjeni rada, a čine ih fizikalni, hemijski i biološki faktori na mjestu rada. Također, donešena su pravila o procjeni rizika kojima je propisan način i postupak procjene rizika, te sadržaj akta o procjeni rizika od nastanka oboljenja ili oštećenja zdravlja radnika na radnom mjestu. Njime se definišu biološke štetnosti kao moguće štetnosti na radnom mjestu, a to su prisutni virusi, paraziti, gljivice i bakterije. Biološke štetnosti na radnom mjestu su regulisane Direktivom 2000/54 EC Evropske unije o zaštiti radnika od rizika pri izloženosti biološkim agensima na radu, gdje su date osnovne smjernice za procjenu rizika od bioloških štetnosti kao i mjere za sprečavanje i smanjenje rizika.

CILJ

Utvrditi biološke štetnosti na radnom mjestu laboratorijski tehničar, klasificirati ih te procijeniti rizik izloženosti na navedenom radnom mjestu.

MATERIJALI I METODE

Procjena bioloških štetnosti radnog mjesta laboratorijski tehničar u JU Zavod za medicinu rada i sportsku medicinu ZE-DO kantona vršila se na osnovu analize radnog procesa, opisa sredstava za rad i na osnovu periodičnih mjerenja bioloških štetnosti na navedenom radnom mjestu. Periodična mjerenja radili smo uzimanjem uzoraka zraka uzorkovačem zraka Air Spinner IUL V2. Uzeti su uzorci i na kontrolnim mjestima i to zrak okoliša kao vanjska kontrola, i zrak iz sobe za boravak osoblja kao ambijentalna unutrašnja kontrola. Po prikupljanju prisutnih mikroorganizama slijedila je njihova identifikacija. Na osnovi izolovanih uzročnika, njihove različitosti i broja vršila se procjena rizika na radnom mjestu, preko klasifikacijskog popisa bioloških agenasa temeljenog na njihovu utjecaju na zdravlje radnike (matrice za procjenu rizika).

REZULTATI I ZAKLJUČAK

Na radnom mjestu laboratorijski tehničar Zavoda izolovane su bakterije i to koagulaza negativne stafilokoke. Broj izolovanih bakterija je bio 481,67 CFU po m³. Na kontrolnim mjestima u okolišu je izolovano 410,00 CFU po m³, a ambijentalna kontrola u sobi za odmor je imala 63,33 CFU po m³ bakterija. Na radnom mjestu laboratorijski tehničar se tako nalazilo 7,6 puta više bakterija u odnosu na ambijentalnu kontrolu, dok je broj bakterija u okolišu bio za 1,17 puta manji. Pored izolovanih uzročnika bitno je uzeti u obzir rad sa zaraznim materijalom na navedenom radnom mjestu, te mogućnost zaraze uzročnicima iz skupine 3 patogenih uzročnika. Po matricama za procjenu rizika na osnovu analize vjerovatnoće dobili smo da se radi o visoko rizičnom radnom mjestu.

KLJUČNE RIJEČI

Radno mjesto, zrak, procjena rizika, biološke štetnosti

USPOREDBA DVAJU METODA MODELIRANJA 3D STANIČNIH SFEROIDA

ZORISLAVA ŽIVKOVIĆ¹, Teuta Opačak-Bernardi²

¹ Opća županijska bolnica Našice, Našice, Hrvatska

² Katedra za medicinsku kemiju, biokemiju i kliničku kemiju, Medicinski fakultet Osijek, Osijek, Hrvatska
zorislavazivkovic12@gmail.com

UVOD

3D stanična kultura, kao poveznica između 2D staničnih tehnika i životinjskih modela, pruža obilje novih mogućnosti i napredak je pristupu in vitro modela u istraživanju raka. 2D stanične kulture imaju nekoliko nedostataka koje uključuju neadekvatno rekreiranje prirodnog okoliša stanice, promjene u staničnoj morfologiji i polarnosti. Za razliku od 2D staničnih kultura, 3D sferoidi mogu stvoriti mikrookruženje sličnije in vivo uvjetima nativnog tkiva. Razvijeno je nekoliko različitih metoda stvaranja sferoida, a u ovoj studiji sferoidi su uzgojeni na mekoj podlozi (agaroza) i pomoću magnetske levitacije.

CILJ

Cilj studije je usporediti brzinu rasta i morfološke karakteristike sferoida nastalih različitim metodama kako bi se u istraživanjima mogli odlučiti za optimalnu metodu ovisno o zahtjevima.

MATERIJALI I METODE

Stanične linije glioblastoma (D54 i U251) kultivirane su u inkubatoru s kontroliranom atmosferom uz 5 % CO₂ i temperaturom od 37 °C u bočicama za uzgoj stanica. Dan prije početka eksperimenta magnetske levitacije stanice su preko noći inkubirane s magnetskim nanočesticama. Za potrebe eksperimenta magnetske levitacije magnetska pločica postavljena je iznad mikrotitarske ploče kako bi omogućila stvaranje sferoida. Druga metoda uključuje uporabu agaroznog nosača koji je pripremljen razlijevanjem sterilne otopine agaroze koja se temperirala na stanične uvjete (37°C) prije nanošenja stanične suspenzije. Najkompaktniji sferoidi su prikupljeni i preneseni u govedu želatinu a potom smrznuti u hladnjaku na -80°C. U obje metode sferoidi rastu najmanje 72h, a medij potrebno mijenjati u redovnim intervalima ovisno o primjenjivanim protokolima, staničnim linijama i testovima.

REZULTATI I ZAKLJUČAK

Metoda magnetske levitacije jednostavna je za korištenje te omogućuje proizvodnju velikog broja sferoida pod reproducibilnim uvjetima. Međutim, magnetska levitacija nije pogodna za neke metode kao što je MALDI zbog prisutnosti magnetskih čestica. Ugrađivanje sferoida u čvrstu matricu (želatina) koja ne proizvodi pozadinski signal u MALDI analizi jedna je od glavnih prednosti ove metode. Jedan od nedostataka želatine je da ima ograničenu prozirnost kada se zamrzne, što otežava pregled sferoida tijekom rezanja. Također, reproducibilnost ove metode je jako ovisna o samom postupku nanošenja nosača i stanica.

KLJUČNE RIJEČI

3D stanične kulture, sferoidi, magnetska levitacija

HIBRIDNE MOLEKULE KAO ATRAKTIVNA STRATEGIJA DIZAJNA EFIKASNIJIH PROTUUPALNIH LIJEKOVA

ANTONIO PERIŠ

Klinički bolnički centar Osijek, Osijek, Hrvatska
antonioperis0@gmail.com

UVOD

Kronične upalne bolesti danas su vodeći uzrok smrtnosti u svijetu i odgovorne su za oko 60 % svih smrti. Shvaćanje multifaktorijalnosti kronične upale osnova je za potpuno nove pristupe u dizajnu lijekova. Jedan od njih su hibridni lijekovi, okarakterizirani kao 'jedna molekula - više ciljeva' koji se smatraju najsofisticiranijom formom kombinacijske terapije. Primijenjena strategija omogućuje spajanje dvaju ili više bioaktivnih podjedinica u jednu molekulu, što može dovesti do farmakološkog učinka većeg od zbroja učinaka svakog pojedinačnog dijela i ima potencijal prevladavanja otpornosti na lijekove.

CILJ

Prikazati primjenu i značaj hibridnih spojeva kod upale i povezanih bolesti.

MATERIJALI I METODE

Pregled dostupne literature, izvornih i preglednih članaka objavljenih u znanstvenim bazama podataka.

REZULTATI I ZAKLJUČAK

Potencijal molekularne hibridizacije u dizajnu efikasnijih lijekova prepoznat je u znanstvenoj zajednici. Tako su u brojnim studijama konvencionalni nesteroidni protuupalni lijekovi (NSAID) hibridizirani sa raznim farmakološki aktivnim skupinama (dušikov oksid, antioksidansi...) što je rezultiralo novim i poboljšanim učincima. Kardiovaskularne bolesti zbog svoje heterogene patogeneze i dalje su velik problem, a hibridi standardnih lijekova (losartana, nifedipina i sl.) pokazali su potentne učinke in vitro i in vivo. Neurodegenerativne bolesti karakterizirane su neuroupalom, a obećavajući lijek za Alzheimerovu bolest, ladostigil, hibrid je dva druga lijeka te ima dodatne neuroprotektivne osobine. Vidljiv je velik napor u razvoju novih višeciljanih hibridnih molekula koje bi u bliskoj budućnosti mogle ući u kliničku praksu i biti korisne u farmakoterapiji kompleksnih bolesti.

KLJUČNE RIJEČI

Hibridne molekule; upala; kronične upalne bolesti

UHPLC-MS/MS ODREĐIVANJE KANABIDIOLA U BIOLOŠKIM UZORCIMA

NINA KALAJŽIĆ¹, Ana Batinić², Franko Burčul³, Davorka Sutlović⁴

¹ Sveučilište u Splitu, Sveučilišni odjel zdravstvenih studija

² Ljekarna Splitsko-dalmatinske županije

³ Sveučilište u Splitu, Kemijsko-tehnološki fakultet

⁴ Sveučilište u Splitu, Sveučilišni odjel zdravstvenih studija

nkalajzic@ozs.unist.hr

UVOD

Kanabidiol (CBD) je bioaktivni kanabinoid koji nema psihotropne učinke te ga danas milijuni ljudi koriste kao dodatak prehrani. Prema dosadašnjim istraživanjima CBD ima učinak na različite bolesti uključujući epilepsiju, upalna stanja, maligne bolesti, kroničnu bol te kardiovaskularne bolesti. CBD može sniziti povišeni krvni tlak, poboljšati funkciju endotela i smanjiti krutost arterija. Veliki broj studija pokazuje da je oralna bioraspoloživost CBD-a vrlo niska te je od iznimne važnosti, nakon primjene, u biološkim uzorcima odrediti koncentraciju. Stoga je potrebno koristiti pouzdanu metodu, dovoljno specifičnu i osjetljivu za određivanje niskih razina analita u složenim matricama.

CILJ

Primarni cilj ovog istraživanja bio je razviti metodu određivanja koncentracije CBD-a kao i njegovih metabolita [7-hidroksi-kanabidiol (7-OH-CBD) i 7-karboksi-kanabidiol (7-COOH-CBD)].

MATERIJALI I METODE

Proteini u uzorcima plazme (1 mL) istaloženi su s 1,25 mL ledenog acetonitrila. Nakon miješanja, uzorci su centrifugirani (2600 okretaja u minuti tijekom 2 minute) te je 1,5 mL supernatanta i 1 mL redestilirane vode dodano u kolone za ekstrakciju čvrstom fazom sa CBD specifičnim ulošcima (United Chemical Technologies, Styre Screen SSTHC063, Bristol, PA, SAD). Kolona je isprana s 1 mL redestilirane vode i sušena pod visokim vakuumom. CBD se ispire smjesom heksana/ etil acetata/ octene kiseline (49:49:2, v/ v) i suši u struji dušika. Nakon sušenja uzorci su otopljeni sa 150 μ L acetonitrila i redestilirane vode (1:1, v/ v). Mjerenja su provedena UHPLC-MS/MS metodom (Ultimate 3000RS opremljen TSQ Quantis MS/MS detektorom, Thermo Fischer Scientific, Waltham, MA, SAD). Kvantitativna analiza CBD-a, 7-OH-CBD-a i 7-COOH-CBD-a provedena je pomoću vanjskih kalibracijskih krivulja za svaki analit (u rasponu od 0 ng/mL do 2000 ng/mL). Za pripremu kalibracijske krivulje korišten je sintetički urin. Standardi korišteni za kvalitativno i kvantitativno određivanje CBD-a i njegovih metabolita nabavljeni su od Cerilliant, Sigma Aldrich (Round Rock, TX, SAD), kao certificirane referentne otopine (otopljene u metanolu 1 mg/mL).

REZULTATI I ZAKLJUČAK

Granica detekcije i granica kvantifikacije procijenjene su pomoću slijepih proba. Analizirano je deset slijepih proba i granica detekcije izračunata je kao $3,9 \cdot (s_{y,bl} / b)$, gdje s_{y,bl} predstavlja standardnu devijaciju signala slijepa probe za svaki analit, a b predstavlja nagib odgovarajuće kalibracijske krivulje. Granica kvantifikacije procijenjena je na $3,3 \cdot \text{LOD}$. Granice detekcije za CBD, 7-OH-CBD i 7-COOH-CBD iznosile su 0.60 ng/mL, 0.20 ng/mL i 0.20 ng/mL, redom. Granice kvantifikacije bile 1.98 ng/mL za CBD i 0.66 ng/mL za oba metabolita. UHPLC-MS/MS zbog brzine, osjetljivosti i zadovoljavajuće selektivnosti se pokazala kao najbolja metoda izbora za analizu CBD-a i njegovih metabolita.

KLJUČNE RIJEČI

Kanabidiol, UHPLC-MS/MS metoda, CBD metaboliti

**SAŽETCI
POSTERSKIH
IZLAGANJA
/ POSTER
PRESENTATION
ABSTRACTS**

P1

DETEKCIJA DOBROVOLJNOG DARIVATELJA KRVI S PREBOLJENOM INFEKCIJOM HEPATITISOM B-PRIKAZ SLUČAJA

ADMIR DILBEROVIĆ¹, Jurica Arapović², Ana Stanić¹, Lidija Kola¹, Dolores Martinović¹

¹ Opća bolnica Dubrovnik, Dubrovnik, Hrvatska

² Sveučilišna klinička bolnica Mostar, Medicinski fakultet Mostar, Mostar, Bosna i Hercegovina
ado4@hotmail.com

UVOD

Krvni preparati moraju zadovoljiti brojne nacionalne zahtjeve kako bi bilo osigurano da su sigurni za upotrebu. Transfuzija nepodudarne krvi ili one zaražene krvlju prenosivom bolesti može pogoršati stanje pacijenta pa čak izazvati i smrt. Zbog toga je ispravna selekcija darivatelja, krvi i testiranje pripravaka od iznimne važnosti. Krv se uvijek smatra potencijalno zaraznom sve dok rezultati testiranja ne pokažu kako u doniranoj krvi nije prisutan uzročnik zaraznih bolesti za koje je zakonom propisano obavezno testiranje. Osim obaveznih testova, naš Odjel koristi dodatne serološke testove koji mogu detektirati preboljenu infekciju hepatitisom B a o čemu će biti riječi u ovom prikazu slučaja.

CILJ

Prikazom slučaja pokazat ćemo značaj upotrebe dodatnih seroloških testova u detekciji preboljene infekcije hepatitisom B. Kroz ovaj rad biti će prikazana dobrovoljna darivateljica krvi s preboljenom infekcijom hepatitisom B.

MATERIJALI I METODE

Predmet ovog rada bila je dobrovoljna darivateljica krvi. Materijal za rad bio je uzorak krvi koji je analiziran na serološke markere hepatitisa B imunokemijskom metodom (CMIA) na analizatoru Architect tvrtke Abbott Diagnostic (Illinois, SAD).

REZULTATI I ZAKLJUČAK

Korištenjem anti HBc i aHBs testova detektirali smo preboljenu infekciju hepatitisom B koju upotrebom samo obveznih testova nije moguće detektirati. Obavezno serološko i molekularno testiranje darivatelja krvi na hepatitis B dobro detektira potencijalno zaražene osobe i nositelje hepatitisa B, no upotreba ovih testova može još više doprinijeti sigurnosti primatelja, ali i darivatelja krvi.

KLJUČNE RIJEČI

transfuzija krvi, hepatitis B, serološko testiranje

P2

NAJČEŠĆI UZROK ODBIJANJA DOBROVOLJNIH DARIVATELJA KRVI U KLINIČKOM ZAVODU ZA TRANSFUZIJSKU MEDICINU U OSIJEKU TIJEKOM 2014. I 2020. GODINE

MATEA REBRINA

KBC Sestre milosrdnice, Zagreb, Hrvatska
rebrina--13@hotmail.com

UVOD

Dobrovoljno darivanje krvi bitno je za sigurno i kvalitetno transfuzijsko liječenje bolesnika. Kod odabira dobrovoljnih darivatelja krvi provode se brojni i strogi kriteriji koji su propisani zakonom, dok oni koji ih ne zadovolje bivaju odbijeni.

CILJ

Prikazati najčešći razlog odbijanja potencijalnih dobrovoljnih darivatelja krvi po spolu i usporediti ih između 2014. i 2020. godine

MATERIJALI I METODE

Istraživanje je provedeno na principu retrospektivne studije tijekom 2014. i 2020. godine iz baze podataka Kliničkog zavoda za transfuzijsku medicinu u Osijeku. Ispitanici u ovom istraživanju osobe su od 18 do 65 godina s područja Osječko-baranjske županije. Korišten je χ^2 -test, dok je statistička analiza napravljena pomoću programskog sustava MedCalc (inačica 14.12.0, MedCalcSoftware) uz razinu značajnosti od $P < 0,05$.

REZULTATI I ZAKLJUČAK

Prema obrađenim podacima za 2014. godinu u Kliničkom zavodu za transfuzijsku medicinu u Osijeku broj odbijenih potencijalnih darivatelja krvi iznosio je 2 910 osoba od kojih 1 748 (60%) muškaraca i 1 162 (40%) žena, dok tijekom 2020. godine broj odbijenih darivatelja krvi iznosi 2 210 osoba, od kojih 1 204 (54%) muškaraca i 1 006 (46%) žena. U Kliničkom zavodu za transfuzijsku medicinu u Osijeku nakon obrade podataka iz 2014. i 2020. godine χ^2 -testom značajna razlika postoji u odbijanju potencijalnih darivatelja krvi s obzirom na spol ($P < 0,001$), odnosno žene se manje odbijaju u obje godine nego muškarci. Također, navedeni podatci upućuju na sklonost opadanja broja odbijenih potencijalnih darivatelja krvi. Klinički zavod za transfuzijsku medicinu u Osijeku kao najčešći uzrok odbijanja potencijalnih darivatelja krvi navodi sniženu koncentraciju hemoglobina zbog koje je u 2014. godini odbijeno 1 138 osoba, 641 (56%) muškaraca i 497 (44%) žena. Tijekom 2020. godine odbijenih potencijalnih darivatelja krvi je bilo 528 zbog snižene koncentracije hemoglobina od čega 218 (41%) muškaraca i 310 (58%) žena. S obzirom na spol postoji značajna razlika u odbijanju potencijalnih dobrovoljnih darivatelja krvi zbog snižene koncentracije hemoglobina tijekom navedene dvije godine ($P < 0,001$). Postotak odbijenih muškaraca zbog snižene koncentracije hemoglobina tijekom 2014. godine bio je viši u odnosu na 2020. godinu dok je situacija kod žena suprotna. Zaključak: Najčešći uzrok odbijanja dobrovoljnih darivatelja krvi u Kliničkom zavodu za transfuzijsku medicinu u Osijeku tijekom 2014. i 2020. godine je snižena koncentracija hemoglobina kod oba spola.

KLJUČNE RIJEČI

darivatelji krvi; hemoglobin; odbijanje

UTJECAJ DARATUMUMAB NA PRIJETRANSFUZIJSKO ISPITIVANJE I TRANSFUZIJSKO LIJEČENJE

Lidija Kola¹, ADMIR DILBEROVIĆ¹, Ivan Kola²

¹ Opća bolnica Dubrovnik, Dubrovnik, Hrvatska

² Zavod za hitnu medicinu Dubrovačko-neretvanske županije

lidijak@bolnica-du.hr

UVOD

Daratumumab je monoklonsko IgG anti CD-38 protutijelo čija primjena dovodi do panreaktivnosti u testovima prijetransfuzijskog ispitivanja a sama panreaktivnost je posljedica vezivanja monoklonskog protutijela na protein CD-38 na površini eritrocita. Ovo vezivanje onemogućuje otkrivanje antieritrocitnih aloprotutijela i osiguravanje podudarnog koncentrata eritrocita za transfuzijsko liječenje.

CILJ

Cilj rada je prikaz pacijenata koji su na terapiji lijekom daratumumab i analiza i rješavanje interferencija koje njegova terapijska primjena uzrokuje u prijetransfuzijskom imunohematološkom ispitivanju.

MATERIJALI I METODE

U ovom istraživanju analizirana su 3 pacijenta oboljela od multiplog mijeloma koji su liječeni daratumumabom (Darzalex) u našoj bolnici u protekle 2 godine. Za testiranja su uzeti svježi uzorci krvi pacijenata u epruvetu s antikoagulansom etilendiamintetraoctena kiselina (EDTA). Prijetransfuzijsko imunohematološko ispitivanje prije početka korištenja lijeka uključivalo je određivanje krvne grupe (ABO) i Rh faktora, direktnog i indirektnog antiglobulinskog testa, Rh fenotipa i Kell antigena pacijenta. Metode rada su bile mikrokartice različitih proizvođača, antigen specifični serumi i testni eritrociti. U ispitivanjima koja su rađena tijekom korištenja daratumumab, za neutralizaciju anti CD-38 protutijela u križnoj reakciji koristio se specifični reagens DaraEx.

REZULTATI I ZAKLJUČAK

U imunohematološkom ispitivanju prije primjene lijeka sva 3 pacijenta imala su negativan indirektni i direktni antiglobulinski test. Nakon primjene lijeka, indirektni antiglobulinski test bio im je pozitivan. Sve križne probe rađene s dozama koncentrata eritrocita koje nisu tretirane DaraEx-om su bile pozitivne. Nakon obrade specifičnim DaraEx reagensom, križne probe su bile negativne te su pacijenti potom uspješno transfudirani, bez poslijetransfuzijskih reakcija. U ovom istraživanju nađene su interferencije u prijetransfuzijskom imunohematološkom testiranju kod svih pacijenata nakon primjene Daratumumaba. Zbog lažno pozitivnih rezultata u testovima teža je identifikacija eventualno prisutnih aloprotutijela što ugrožava sigurnost transfuzijskog liječenja. Pacijentima s dijagnozom multiplog mijeloma često su potrebne transfuzije krvnih pripravaka. Stoga je važna suradnja kliničara s Odjelom za transfuziju i pravovremena informacija o početku liječenja s Daratumumab kako bi se napravila identifikacija važnih eritrocitnih antigena i osigurali eritrocitni pripravci podudarni u antigenu prije uzimanja lijeka.

KLJUČNE RIJEČI

daratumumab, prijetransfuzijsko ispitivanje, imunohematološko testiranje

P4

AUTOLOGNI OČNI SERUM

SIMONA DUKIĆ¹, Davor Kihar¹

¹ KBC Rijeka, Rijeka, Hrvatska
pink_simona@hotmail.com

UVOD

AOS- Autologni serum kao kapi za oči iz vlastite krvi bolesnika. Taj postupak možemo najjednostavnije opisati kao prikupljanje te ponovno vraćanje u ljudski organizam iz kojeg je ta komponenta dobivena - u smislu da pacijent pomaže samome sebi. U KBC-u Rijeka je rasla potražnja i potreba pacijenata za autolognim očnim kapima od 2019. kada je i krenula proizvodnja istih.

CILJ

Proizvodnja autolognih kapi za oči iz krvnog seruma bolesnika za ublažavanje simptoma kod pacijenata sa: Sjögrenovim sindromom (suho oko), Stevens-Johnsonovim sindromom (konjuktivitis) te kod toplinskih i kemijskih ozljeda rožnice te neurotrofičnih keratopatija i trauma oka.

MATERIJALI I METODE

Pacijentu se venepunkcijom uzima 150ml pune krvi u vrećicu bez antikoagulansa. Skladišti se 2h na 22°C do 24°C prije spremanja u hladnjak gdje se čuva do prerade sljedećeg dana (unutar 24h). Nakon postupne sedimentacije supernatantni dio iz primarne vrećice se odvaja te centrifugira. Dobiveni makroskopski uredan serum se sterilno spaja te potom diluira sa 0,9% izotoničnom otopinom NaCl (f.o.) u omjeru 1:4. Slijedi alikvotiranje u parcijalne doze za aplikaciju od 1,5 ml, označavanje te spremanje u karantenu do završetka seroloških i mikrobioloških rezultata. U zamrzivaču se čuvaju na - 30°C. Rok trajanja 6 mjeseci od datuma proizvodnje. Pacijent dobiva zalihi dostatnu za 3 mjeseca korištenja s uputstvima da je potrebno skladištiti ispod - 20°C te nakon otapanja potrošiti u roku 24 h. Od ustanove do svoje kuće ih prenosi na suhom ledu.

REZULTATI I ZAKLJUČAK

Dobivanje pripravaka s minimalnim brojem kontraindikacija za pacijenta. Na autologni očni serum pacijent ne razvija rezistenciju niti alergijsku reakciju kao što to može biti slučaj kod komercijalnih kapi za oči. Ne postoji mogućnost odbacivanja pripravka tj. imunizacije tuđim protutijelima. Novitet kod proizvodnje autolognog očnog seruma u KBC Rijeka (Kinički zavod za transfuzijsku medicinu) je način uzorkovanja aeroba i anaeroba za hemokulturu (Bactalert) - Vacutainer nastavak sa pripadajućom iglom koji se sterilno navaruje na ostatni dio razrijeđenog seruma te uvelike olakšava uzimanje mikrobioloških uzoraka. U 2019. je proizvedeno 47 setova, 2020. - 99 setova, 2021. - 125 setova, 2022. - 135 setova te u prvoj polovici 2023. preko 75 setova kapi za oči iz autolognog očnog seruma. Prisutan je pozitivan rast u broju proizvedenih setova od 2019. kad je i krenula proizvodnja AOS-a te minimalan broj neuspješno proizvedenih zaliha za pacijente.

KLJUČNE RIJEČI

Autologni očni serum, transfuzijska medicina, sterilnost, skladištenje, suho oko, konjuktivitis, venepunkcija

REZULTATI NAT PROBIRA DARIVATELJA ORGANA, TKIVA I MATIČNIH STANICA NA VIRUSE U 2022. GODINI

VALENTINA KARAKAŠIĆ¹, Lada Blažević¹, Mario Iveljić¹, Josip Valentić¹, Ivor Ćuruvija¹, Ivana Babić¹, Jasna Bingulac-Popović¹

¹ Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu, Zagreb, Hrvatska
tina862010@gmail.com

UVOD

Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu, Odsjek za NAT testiranje DDK provodi jedinstveni, obavezan, centralizirani probir darivatelja organa, tkiva i stanica na nukleinske kiseline virusa hepatitisa B i C, te HIV-1 i -2, i sezonski na nukleinsku kiselinu virusa Zapadnog Nila (WNV RNA). Ovakvo molekularno testiranje visoke osjetljivosti i specifičnosti važno je pratiti bilježenjem kvalitete i obima cijelog postupka.

CILJ

Utvrditi broj provedenih testiranja, rezultate i vezane nesukladnosti u 2022. godini.

MATERIJALI I METODE

Za ispitivanje obima NAT HBV/HCV/HIV i WNV probira darivatelja organa, tkiva i matičnih stanica za 2022. g. korišteni su podaci iz nacionalnog transfuzijskog informatičkog sustava eDelphyn, te Nacionalne transplantacijske mreže, a za praćenje kvalitete testiranja, prijavljene nesukladnosti u sustavu upravljanja kvalitetom u HZTM.

REZULTATI I ZAKLJUČAK

Ukupno je provedeno 2076 NAT HBV/HCV/HIV i 1082 NAT WNV testiranja u 2022. godini. Najbrojniji su bili zahtjevi za testiranjem darivatelja matičnih stanica te pacijenata na terapiji kapima za oči iz autolognog seruma (1329), zatim darivatelja očnog (166) i koštanog tkiva (119), darivatelja organa (97), muskuloskeletnog tkiva (89) te za darivateljice banke humanog mlijeka (83). U periodu 1.6.-1.12.2022. 1082 uzoraka dodatno je testirano na prisutnost nukleinske kiseline virusa Zapadnog Nila, WNV RNA. NAT HBV/HCV/HIV probir dao je pozitivan rezultat za 16 darivatelja matičnih stanica, očnih kapi, očnog tkiva i koštanog tkiva. Rezultati su prikazani u Tablici 1. Infekcija virusom Zapadnog Nila nije utvrđena niti u jednom darivatelja. Prijavljene su tek 2 nesukladnosti: nedozvoljen stupanj razrjeđenja u jednom uzorku i kašnjenje u izdavanju nalaza za jednog darivatelja organa. Odsjek za NAT testiranje DDK u 2022. u potpunosti je zadovoljio i opravdao potrebu rutinskog i žurnog molekularnog probira virusa za darivatelje organa, tkiva i matičnih stanica uz visoki stupanj kvalitete rada.

KLJUČNE RIJEČI

NAT probir, darivatelji organa, darivatelji tkiva, darivatelji matičnih stanica

P6

PROIZVODNJA KONVALESCENTNE PLAZME U DOBA PANDEMIJE COVID-19 I POSTPANDEMIJSKOM RAZDOBLJU

MATEA TOMAS, Željka Lubina, Matea Vinković, Ana Hećimović

Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu, Zagreb, Hrvatska
mat.tomas93@hotmail.com

UVOD

COVID-19 konvalescentna plazma (CCP) je pripravak izdvojen iz donacije pune krvi (PK) ili prikupljen postupkom afereze od dobrovoljnih davatelja (DDK) koji su preboljeli COVID-19. CCP se koristi u transfuzijskom liječenju oboljelih od COVID-19 i razlikuje se od standardne svježe zamrznute plazme jer sadrži specifična neutralizirajuća antitijela protiv SARS-CoV-2 virusa.

CILJ

Prikazati broj proizvedenih i izdanih CCP u Hrvatskom zavodu za transfuzijsku medicinu u periodu od sredine 2020. do proglašenja kraja pandemije 11. svibnja 2023. te u postpandemijskom razdoblju.

MATERIJALI I METODE

Kriteriji za darivanje CCP propisani su smjernicama Hrvatskog društva za transfuzijsku medicinu. CCP iz PK proizvodi se uzimanjem krvi DDK u četverostruku vrećicu i miješanjem s CPD antikoagulantnom otopinom. Zatim se centrifugiranjem odvaja veći dio plazme od staničnog dijela te se dobivena plazma naglo zamrzava unutar 24 sata od uzimanja krvi. CCP prikupljena staničnim separatorom naglo se zamrzava unutar šest sati od donacije. Skladištenje gotovog proizvoda CCP je na temperaturi ispod -25°C. Titar anti-SARS-CoV-2 IgG protutijela provodi se rutinski u HZTM-u za svaku prikupljenu CCP. Plazme sa zadovoljavajućim titrom budu proizvedene kao CCP za kliničku upotrebu.

REZULTATI I ZAKLJUČAK

REZULTATI: Od 2020. do proglašenja kraja pandemije proizvedeno je 3.082 doza CCP i to 428 aferezom i 2.654 iz doza PK, a ukupno je isporučeno 2.845 doza CCP. U postpandemijskom periodu (11.5.2023.- 30.6.2023.) proizvedeno je 7 doza CCP iz PK i jedna CCP dobivena aferezom, a ukupno je isporučeno 53 doze CCP. Rezultati su dobiveni iz e-Delphyn-a, informatičkog sustava transfuzijske službe u RH. ZAKLJUČAK: Od davnina korištena, ali do pandemije COVID-19 pomalo i zaboravljena, terapija konvalescentnom plazmom postala je nezamjenjivi dio liječenja bolesnika s COVID-19 koji nemaju dovoljno jak imunološki sustav za borbu s infekcijom. U pandemijama je bitno brzo pronaći učinkovitu terapiju. CCP može pomoći prebroditi vrijeme do pronalaska specifičnih lijekova. Prikupljanjem i proizvodnjom COVID-19 konvalescentne plazme s visokim titrom protutijela pokazali smo kako smo spremni reagirati u pandemijskim situacijama. Ovo iskustvo bit će primjenjivo i za druge pandemije ukoliko do njih dođe. Bez obzira što je pandemija službeno završena još postoji potražnja za konvalescentnom plazmom.

KLJUČNE RIJEČI

konvalescentna plazma, DDK, COVID-19, titar

PRAĆENJE ANTITIJELA HLA KOD BUBREŽNIH BOLESNIKA METODOM LUMINEX

MAGDALENA SVETEC¹, Lucija Jukić¹, Marija Burek Kamenarić¹

¹ KBC Zagreb, Zagreb, Hrvatska
magdalena.svetec@kbc-zagreb.hr

UVOD

Određivanje antitijela HLA (od engl. Human Leukocyte Antigen) dio je imunogenetskih pretraga bubrežnih bolesnika pri prijavi na listu čekanja za transplantaciju te u poslije-transplantacijskom praćenju bolesnika. Standardna metoda testiranja je test limfocitotoksičnosti ovisne o komplementu (od engl. Complement Dependent Cytotoxicity; CDC) kojom se određuju citotoksična antitijela HLA razreda I, specifičnosti HLA-A i B. Imunizacija HLA metodom CDC dokazuje se u oko 20% bolesnika. Danas se kao najosjetljivija metoda određivanja citotoksičnih i necitotoksičnih antitijela HLA, svih specifičnosti HLA razreda I (HLA-A, -B, -C) i razreda II (HLA-DR, -DQ, -DP), koristi Luminex tehnologija.

CILJ

Cilj rada bio je analizirati rezultate testiranja uzoraka seruma bubrežnih bolesnika poslanih za predtransplantacijsku obradu i poslije-transplantacijsko praćenje metodom Luminex.

MATERIJALI I METODE

Metoda Luminex temelji se na polistirenskim kuglicama obloženim antigena HLA na koje se vežu pripadajuća antitijela HLA iz seruma bolesnika. Vezanjem fluorescentno obilježenog sekundarnog antitijela specifičnog za ljudski IgG na kompleks antigen-antitijelo omogućava se njihova identifikacija te određivanje intenziteta reakcija. Za analizu uzoraka seruma bubrežnih bolesnika korišteni su testovi za screening seruma (LABScreen Mixed Kit; One Lambda) te testovi za određivanje specifičnosti antitijela HLA (Lifecodes LSA Single Antigen Antibody Detection Kit; Immucor).

REZULTATI I ZAKLJUČAK

U razdoblju od siječnja 2019. do lipnja 2023. godine analizirana su ukupno 804 uzorka seruma bubrežnih bolesnika u sklopu predtransplantacijske obrade. Ukupno 558 uzoraka (69,4%) bilo je negativno na prisutnost antitijela HLA, dok je u 246 uzoraka (30,6%) dokazana prisutnost antitijela HLA, od čega je 88 uzoraka (35,8%) bilo pozitivno samo za antitijela HLA razreda I, 58 uzoraka (23,6%) samo za razred II, a za oba razreda je bilo pozitivno 100 uzoraka (40,7%). U istom razdoblju su testirana i 2932 uzorka seruma transplantiranih bubrežnih bolesnika, od čega je u 1378 uzoraka (47%) dokazano prisustvo antitijela HLA. Najveći broj uzoraka je bio pozitivan za antitijela HLA razreda II (545 uzoraka; 39,6%). Za antitijela HLA Razreda I je bilo pozitivno 440 uzoraka (31,9%), a za oba razreda 393 uzorka (28,5%). Učestalost imunizacije ispitivanih skupina značajno je viša od učestalosti imunizacije koja se otkriva metodom CDC, što se objašnjava visokom učestalošću imunizacije na antigene HLA razreda II te antitijela u niskom titru koja se isključivo mogu dokazati metodom Luminex. Testiranje seruma metodom Luminex na taj način omogućava kvalitetniji odabir davatelja organa te rano otkrivanje novonastalih antitijela HLA nakon transplantacije koja mogu utjecati na preživljenje organa i ishod transplantacije

KLJUČNE RIJEČI

CDC, Luminex, predtransplantacijska obrada, poslije-transplantacijsko praćenje, HLA razred I i II

P8

UTVRĐIVANJE STATUSA KIMERIZMA KOD BOLESNIKA NAKON DRUGE TRANSPLANTACIJE KRVOTVORNIH MATIČNIH STANICA S RAZLIČITIM DAVATELJEM

JELENA PIŠKOR¹, Katarina Štingl Janković¹, Marija Maskalan¹, Zorana Grubić¹

¹ KBC Zagreb, Zagreb, Hrvatska
jelena.piskor@kbc-zagreb.hr

UVOD

Transplantacija krvotvornih matičnih stanica (TKMS) je metoda izbora u liječenju brojnih hematoloških bolesti i poremećaja, ali povoljan ishod nije uvijek moguće postići. Jedna od mogućnosti liječenja takvih bolesnika je nova TKMS s davateljem koji se razlikuje od davatelja iz prve TKMS. Praćenje statusa kimerizma, odnosno omjera bolesnikovih naspram davateljevih stanica u uzorku periferne krvi ili koštane srži bolesnika nakon TKMS, dio je standardnog protokola praćenja takvih bolesnika. Analiza kratkih uzastopnih ponavljanja (engl. Short Tandem Repeats, STR) je metoda koja trenutno predstavlja zlatni standard za praćenje kimerizma.

CILJ

Svrha ovog rada bila je utvrditi status kimerizma kod bolesnika nakon druge TKMS s različitim davateljem analizom 21 lokusa STR.

MATERIJALI I METODE

Istraživanje je uključilo 21 bolesnika kod kojeg je provedena druga TKMS s novim davateljem. Njih 12 je u prvoj TKMS primilo KMS od podudarnog nesrodnog davatelja, dok je drugi davatelj bio haploidentična srodna osoba; pet bolesnika je transplantat primilo od podudarnih nesrodnih davatelja u obje TKMS, dok je za preostala četiri bolesnika u obje TKMS izabran haploidentični srodni davatelj. Iz uzoraka periferne krvi s EDTA izolirana je DNA pomoću komercijalnog seta (Nucleospin Blood, Macherey Nagel, Njemačka). Uzorak bolesnika prije prve TKMS, uzorci oba davatelja kao i uzorak bolesnika nakon druge TKMS su potom analizirani uz pomoć komercijalnog seta s 21 lokusom STR (Aneufast™ QF-PCR Kit, Genomed Biotech, Harrow, UK).

REZULTATI I ZAKLJUČAK

Analizom rezultata određivanja alela lokusa STR kod parova bolesnik/davatelj određeni su informativni biljezi za svaki pojedini slučaj, koji omogućuju praćenje prisutnosti tri različita genotipa: bolesnika te njegovog prvog i drugog davatelja. Lokusi STR koji su bili informativni u najvećem broju slučajeva su D21S1442 (16/21, 76%), D21S1411 (13/21, 62%) i D18S386 (12/21, 57%). Ukupan broj informativnih biljega bio je najmanji kod bolesnika čiji su davatelji u obje TKMS bile haploidentične srodne osobe (medijan 4) u usporedbi s ostalim kombinacijama davatelja (podudarni nesrodni davatelj/haploidentični srodni davatelj, medijan 7; podudarni nesrodni davatelj/podudarni nesrodni davatelj, medijan 10). Utvrđivanje statusa kimerizma ukazalo je na prisutnost stanica samo drugog davatelja nakon druge TKMS za većinu bolesnika, njih 20 (95,2%). Kod jednog bolesnika su međutim, uočene stanice i prvog i drugog davatelja i to u omjeru 20% naspram 80%. Ovaj rezultat govori u prilog tvrdnji kako je primjena lokusa STR neophodna u svim slučajevima utvrđivanja statusa kimerizma kod kojih postoji mogućnost prisustva više od dva različita genotipa u analiziranom uzorku.

KLJUČNE RIJEČI

transplantacija krvotvornih matičnih stanica, kimerizam, lokusi STR

ODREĐIVANJE GENA HLA METODOM SEKVENCIRANJA NOVE GENERACIJE (NGS)

DANIJELA SVILIČIĆ¹, Marija Maskalan¹, Renata Žunec¹, Zorana Grubić¹

¹ KBC Zagreb, Zagreb, Hrvatska
danijela.svilicic@kbc-zagreb.hr

UVOD

Sustav HLA (eng. Human Leukocyte Antigens) najpolimorfniji je genetski sustav u čovjeka s više od 36 000 do sada opisanih alela. Određivanje polimorfizma gena HLA (tipizacija tkiva) u transplantaciji krvotvornih matičnih stanica (TKMS) zahtjeva najvišu razinu razlučivanja zbog odabira najpodudarnijeg mogućeg davatelja KMS. Razvoj i primjena metode sekvenciranja nove generacije (engl. Next Generation Sequencing) stvorio je uvjete za određivanje slijeda nukleotida svih egzona i introna gena HLA omogućujući time rezultate tipizacije alela svih gena HLA do najviše razine razlučivanja (4 polja).

CILJ

Svrha ovog rada bila je napraviti analizu rezultata polimorfizma alela HLA u Hrvatskoj nakon uvođenja metode NGS u rutinski rad Odjela za tipizaciju tkiva, u području TKMS.

MATERIJALI I METODE

U analizu su uključeni nesrodni ispitanici u programu TKMS kojima je iz uzorka krvi s antikoagulansom EDTA izolirana DNA korištenjem komercijalnog seta MagNA Pure LC DNA (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Njemačka). Uzorci su tipizirani za lokuse HLA-A, -B, -C, -DRB1, -DQB1 i -DPB1 koristeći testove NGSgo-MX6-1 (GenDx, Utrecht, Nizozemska) na aparatu iSeq (Illumina, San Diego, SAD). Za lokuse HLA-A, -B i -C sekvencirani su egzoni 1 do 8, dok su za lokuse razreda II (HLA-DRB1, -DQB1 i -DPB1) sekvencirani egzoni 2 do 4. Sekvence alela HLA uspoređivane su sa sekvencama baze IPD-IMGT/HLA (Immuno Polymorphism Database - ImMunoGeneTics/HLA).

REZULTATI I ZAKLJUČAK

Ukupan broj uočenih alela na svim testiranim lokusima HLA bio je 451. Ukupan broj novih alela bio je 19. Najpolimorfniji lokus bio je HLA-B (n=117), dok je najmanji polimorfizam bio na lokusu HLA-DQB1 (n=38). Preostala 4 lokusa, HLA-A (n=78), -C (n=71), -DRB1 (n=75) i -DPB1 (n=75), pokazala su podjednak polimorfizam. Najviše novih alela uočeno je na lokusu HLA-B (n=8), zatim na lokusu HLA-A (n=6) i -C (n=4). Na lokusu HLA-DPB1 otkriven je jedan novi alel, dok na preostala dva lokusa razreda II (HLA-DRB1 i -DQB1) nije pronađeno niti jedan novi alel. Ukupno 9 novih alela imalo mutaciju koja dovodi do promjene aminokiseline u proteinu. Ovo istraživanje ističe važnost novih metoda sekvenciranja gena HLA u svrhu određivanja podudarnosti HLA bolesnika i njihovih davatelja u transplantaciji krvotvornih matičnih stanica, ali i dobivanja preciznije slike o raznolikosti gena HLA u našoj populaciji.

KLJUČNE RIJEČI

geni HLA, aleli HLA, sekvenciranje nove generacije (NGS), transplantacija krvotvornih matičnih stanica (TKMS)

P10

KLINIČKA POVEZANOST RO52 (TRIM21) ANTITIJELA SA SISTEMSKIM UPALNIM AUTOIMUNIM BOLESTIMA

KRISTINA GRUBIŠIĆ¹, Tanja Ogrizović Ban¹, Vedrana Drvar¹

¹ KBC Rijeka, Rijeka, Hrvatska
kristina.grubisic0@gmail.com

UVOD

Autoantitijela usmjerena protiv Ro52 proteina javljaju se kod niza sistemskih upalnih autoimunih bolesti, najčešće kod Sjögren sindroma (SjS), sistemskog eritematoznog lupusa (SLE), sistemske skleroze (ScS) i idiopatskim upalnim miopatijama. Ro52 je jedan od najčešće pozitivnih specifičnih antigena iz skupine antinuklearnih antitijela (ANA). ANA predstavljaju heterogenu skupinu autoantitijela usmjerenih na strukturne i funkcionalne dijelove staničnih odjeljaka (jezgre, jezgrine ovojnice, mitotičkog aparata i citoplazme). Korelacijom pozitivnih Ro52 antitijela s rezultatima ANA na Hep-2 stanicama metodom indirektno imunofluorescencije (IIF) utvrđeno je da su u slučaju pozitivnog Ro52 najčešći obrasci fluorescencije granulirana fluorescencija jezgre i/ili citoplazme.

CILJ

Cilj ove retrospektivne studije bila je analiza povezanosti Ro52 sa sistemskim autoimunim bolestima kod bolesnika sa pozitivnim nalazom ANA.

MATERIJALI I METODE

U analizu su bili uključeni svi rezultati ANA u periodu od 1. siječnja do 31. prosinca 2019. (ukupno 3726 uzoraka) analizirani metodom IIF na Hep-2 stanicama (Euroimmun Medizinische Labordiagnostika AG; Lubeck, Njemačka) u Kliničkom zavodu za laboratorijsku dijagnostiku, KBC Rijeka. Nalazi ANA klasificirani su u skupine na temelju titra: negativna (titar 1:160). Ro52 analiziran je metodom imunoblota (Euroimmun Medizinische Labordiagnostika AG; Lubeck, Njemačka) kod svih slabo pozitivnih i pozitivnih ANA. Pozitivni rezultati za Ro52 klasificirani su u skupine autoimunih bolesti i ne-autoimunih bolesti na temelju postavljene dijagnoze.

REZULTATI I ZAKLJUČAK

U razdoblju jedne godine od ukupno 3726 testiranih seruma na ANA, 874 (23%) uzoraka bilo je pozitivno od kojih je 412 (11%) uzoraka bilo slabo pozitivno, a 462 (12%) pozitivno. Ro52 detektiran je kod 135 (15%) bolesnika, među kojima je bilo 117 (86%) žena (prosječna dob: 56 godina; raspon: 21-83) i 18 (14%) muškaraca (prosječna dob: 54 godine; raspon: 17-79). Dijagnoza sistemskih upalnih autoimunih bolesti postavljena je kod ukupno 98 (73%) bolesnika (žene: N=86 (88%) i muškarci: N=12 (12%)) među kojima je SjS bila najčešća dijagnoza (N=47; 48%), zatim SLE (N=18; 18%), SSc (N=4; 4%), idiopatske upalne miopatije (N=3; 3%) i ostale autoimune bolesti (N=26; 27%). Ro52 bio je pozitivan kod ukupno 37 (37%) bolesnika s ne-autoimunim bolestima. Pozitivna Ro52 antitijela češća su u skupini sistemskih upalnih autoimunih bolesti u odnosu na ostale autoimune bolesti. Najčešća dijagnoza povezana s Ro52 je SjS. Analizom broja bolesnika s pozitivnim Ro52 u skupinama sistemskih upalnih autoimunih bolesti i ostalih autoimunih bolesti veći je broj žena u odnosu na muškarce što odgovara većoj prevalenciji autoimunih bolesti kod žena.

KLJUČNE RIJEČI

antinuklearna antitijela; autoimune bolesti; Ro52

TEST AKTIVACIJE BAZOFILA U DOKAZIVANJU ALERGIJA UZROKOVANIH NUTRITIVNIM ALERGENIMA

DARIJA VRZIĆ, Natalija Milec, Tea Duvančić, Željka Tomas, Vesna Kušec

Dječja bolnica Srebrnjak, Zagreb, Hrvatska
darijavrzic0501@gmail.com

UVOD

Alergijske reakcije su pretjerano jake reakcije imunološkog sustava koje zahvaćaju više od 10% svjetske populacije od čega samo 1% čine odrasle osobe. Učestalost alergijskih reakcija u stalnom je porastu, pogotovo u pedijatrijskoj populaciji. U pedijatrijskoj su populaciji posebno značajne nutritivne alergijske reakcije, a specifičnost ovih alergija je postepeni gubitak reakcije u više od 85% djece do 20. godine života. Dijagnostika alergijskih reakcija uključuje pažljivu anamnezu i pregled na temelju kojih se postavlja sumnja na reakciju na određene alergene. Laboratorijska dijagnostika uključuje određivanje specifičnih IgE i test aktivacije bazofila (engl. basophil activation test, BAT). Iako su standard dijagnostike kožni test (eng. skin prick test) i oralni provokacijski test (eng. oral food challenge), ograničenje navedenih testova predstavlja rizik od pretjerane reakcije koja može uključivati i anafilaktičku reakciju. Za razliku od ovih testova, BAT je neinvazivna metoda odličnih karakteristika (osjetljivost, specifičnost), a čiju najveću prednost predstavlja činjenica da se izvodi ex vivo, čime se izbjegava rizik za razvoj pretjerane alergijske reakcije kod pacijenta.

CILJ

Cilj ovog rada je prikazati rezultate BAT-a za nutritivne alergije iz uzoraka pacijenata u ambulantnoj obradi u DB Srebrnjak kroz period od 3 mjeseca ove godine.

MATERIJALI I METODE

Uzorak za BAT je venska krv uzeta u spremnik s K3-EDTA antikoagulansom. Uzorak se obrađuje isti dan, unutar 3 sata od uzorkovanja. Puna krv pacijenta stimulira se specifičnim alergenima, kao i stimulacijskim puferom te negativnim i pozitivnim kontrolama u svrhu procjene degranulacije bazofila ex vivo. Uzorak se obilježava koristeći dva fluorescentno obilježena monoklonska protutijela: jedno za selekciju populacije bazofila, a drugo za determinaciju aktivacijskog statusa bazofila. Eritrociti se uklanjaju postupkom lize. Stanice se potom centrifugiraju, resuspendiraju u puferu i analiziraju na protočnom citometru. U DB Srebrnjak za pripremu BAT-a koriste se reagensi tvrtke Bühlmann Laboratories AG (Švicarska) dok se uzorci analiziraju na protočnom citometru Navios tvrtke Beckman Coulter Inc. (SAD). Panel za nutritivne alergene obuhvaća ukupno 15 alergena.

REZULTATI I ZAKLJUČAK

U navedenom je periodu ukupno obrađeno 58 pacijenata koji su u prosjeku testirani na 3 nutritivna alergena (od 1 do 8 alergena). Za 4 pacijenta nije bilo moguće provesti analizu zbog preniskog broja bazofila te zbog reakcije u negativnoj kontroli što predstavlja ograničenje ove metode. BAT se i nadalje smatra metodom koja je nova i ne čini za sada standardni dio smjernica. Zbog dobrih karakteristika i sigurnosti pacijenta, premda složena i zahtjevna za izvedbu, dobiva važno mjesto u laboratorijskoj dijagnostici alergija.

KLJUČNE RIJEČI

pedijatrijska populacija, nutritivna alergija, bazofili, protočni citometar, BAT

P12

ODREĐIVANJE AUTOANTITIJELA SPECIFIČNIH ZA MIOZITISE U BOLESNIKA S IDIOPATSKIM UPALNIM MIOPATIJAMA

NIVES RADIĆ¹, Andreja Coce Zec¹, Mirjana Jović¹, Anita Sever¹

¹ KBC Zagreb, Zagreb, Hrvatska
nradic@kbc-zagreb.hr

UVOD

Idiopatske upalne miopatije (eng. idiopathic inflammatory myopathies - IIM) su heterogena skupina sistemskih bolesti čiji su najčešći klinički entiteti polimiozitis, dermatomiozitis, miozitis inkluzijskih tjelešaca te miozitis u sklopu drugih sistemskih bolesti. Riječ je o sustavnim bolestima s velikim brojem ekstrapusularnih manifestacija koje uvelike ovise i o prisutnim antitijelima. Antitijela u IIM mogu biti povezana s miozitisima (eng. myositis-associated autoantibodies - MAA) ili specifična za miozitis (eng. myositis-specific autoantibodies - MSA). MAA su protutijela poput anti-RNP, anti-PM-Scl, anti-Ku, odnosno antitijela koja su pozitivna u drugim autoimunim stanjima dok su MSA karakteristična za IIM te se pomoću njih mogu predvidjeti izvanmišićne manifestacije, prognoza i učinkovitost terapije.

CILJ

Usporedba metoda indirektno imunofluorescencije (IIF) i imunoblota (IB) za određivanje MSA i MAA.

MATERIJALI I METODE

Metoda indirektno imunofluorescencije na humanim epitelnim stanicama HEp-2 je zlatni standard za pretraživanje seruma na prisutnost antinuklearnih antitijela (ANA). Brojna MSA i MAA autoantitijela pokazuju karakteristični obrazac imunofluorescencije ANA. Komercijalno dostupnom Imunoblot kvalitativnom metodom moguće je istovremeno otkriti prisutnost 16 različitih MSA odnosno MAA (Euroimmun, Lübeck, Njemačka). Imunoblot test trakice su obložene visoko pročišćenim antigenima: Mi-2 α , Mi-2 β , TIF1 γ , MDA5, NXP2, SAE1, Ku, PM-Scl100, PM-Scl75, Jo-1, SRP, PL-7, PL-12, EJ, OJ i Ro-52. Antitijela iz seruma pacijenata vezana za ciljne antigene su vidljiva kao obojane pruge na test trakicama.

REZULTATI I ZAKLJUČAK

Pretraživanje na prisutnost MSA i MAA imaju ključnu ulogu u dijagnostici IIM. Metodom indirektno imunofluorescencije na HEp-2 stanicama nije moguće detektirati sva karakteristična MSA i MAA autoantitijela. Određivanjem MSA i MAA metodom imunoblota omogućena je pouzdana detekcija najznačajnijih MSA i MAA te stoga ima veliki značaj u dijagnostici upalnih miopatija.

KLJUČNE RIJEČI

Idiopatske upalne miopatije, miozitis specifična autoantitijela-MSA, indirektna imunofluorescencija, imunoblot

MILENA NADRČIĆ¹, Esma Čečuk-Jeličić¹, Sonja Jaman¹, Marija Banić¹, Antonela Tokalić¹, Iva Malenica², Daniela Šupe-Domić¹

¹ KBC Split

² Sveučilišni odjel zdravstvenih studija

milenanadrcic@gmail.com

UVOD

Štitna žlijezda je endokrina žlijezda smještena u vratu, čija je glavna funkcija proizvodnja hormona koji su važni za regulaciju metabolizma u tijelu. Štitna žlijezda luči dva najvažnija hormona - tiroksin (T4) i trijodtironin (T3) koji igraju važnu ulogu u rastu i razvoju tijela. Proizvodnja hormona u štitnjači regulirana je hipotalamus-hipofiza-štitnjača (HPT) vezom. Hipotalamus proizvodi hormon koji se naziva TRH (tireoliberin ili tiotropin-oslobađajući hormon), koji potiče hipofizu da proizvodi hormon TSH (tiroidni stimulirajući hormon). TSH zauzvrat stimulira štitnjaču da proizvede hormone T4 i T3. Hashimotov tireoiditis (kronični limfocitni tireoiditis), autoimuni je poremećaj koji zahvaća štitnjaču, i najčešći je uzrok hipotireoze tj. smanjene proizvodnje hormona štitnjače. Ovo stanje je češće kod žena i često se razvija kod osoba srednjih godina. Simptomi Hashimotovog tireoiditisa mogu biti vrlo različiti i mogu uključivati umor, debljanje, netoleranciju na hladnoću, gubitak kose i depresiju. Iako ne postoji lijek za Hashimotov tireoiditis, liječenje obično uključuje hormonsku nadomjesnu terapiju za kontrolu simptoma i sprječavanje komplikacija. Kako bi se uspješno liječila ova bolest potrebna je dobra dijagnostika koja uključuje pretrage koje su opisane u ovom sažetku. Uz mjerenje koncentracije hormona TSH, T4, fT4, T3 i fT3, količine antitijela protiv tireoglobulina (anti-Tg) i antitijela protiv tireoidne peroksidaze (TPO), kod pacijenata sa sumnjom na Hashimotov tireoiditis određuju se i aleli lokusa HLA-B i HLA-DRB1 obzirom na poznatu povezanost sustava HLA i autoimunih bolesti.

CILJ

Ukazati na važnost laboratorijskih pretraga u dijagnosticiranju, praćenju i liječenju Hashimotovog tireoiditisa kod 22godišnjeg pacijenta sa potvrđenom dijagnozom.

MATERIJALI I METODE

Iz uzorka krvi pacijenta mjereni su ključni parametri potrebni za dijagnosticiranje Hashimotovog tireoiditisa. Koncentracije hormona TSH, T4, fT4, T3 i fT3 mjerene su na uređaju Roche cobas e 800 metodom elektrokemiluminiscentnim imunoesejem „ECLIA“. Količina antitijela protiv tireoglobulina (anti-Tg) i antitijela protiv tireoidne peroksidaze (TPO) mjerene su na uređaju Abbott-Alinity kemiluminiscentnom imunokemijskom metodom „CMIA“. Za određivanje alela lokusa HLA-B i HLA-DRB1 korištena je molekularna metoda PCR-SSO (Polymerase chain reaction sequence-specific oligonucleotide) na Luminex® aparatu.

REZULTATI I ZAKLJUČAK

Rezultati izmjerenih vrijednosti koncentracije hormona TSH, T4, fT4 i T3 su bile unutar referentnog intervala, dok je rezultat koncentracije hormona fT3 bio ispod donje granice referentnog intervala. Količina antitijela protiv tireoglobulina (anti-Tg) i antitijela protiv tireoidne peroksidaze (TPO) su pokazala značajno povišene vrijednosti u odnosu na referentni interval. Rezultati tipizacije alela lokusa HLA-B i HLA-DRB1 (HLA-B*44 *51; HLA-DRB1*11, -) ne ukazuju na genetsku predispoziciju pacijenta za Hashimotov tireoiditis. Iz dobivenih rezultata zaključujemo da povišena količina antitijela anti-Tg i anti TPO govore u prilog navedene dijagnoze.

KLJUČNE RIJEČI

Štitna žlijezda, Hormoni štitnjače, Hashimotova bolest

MIKROSPOROZA U SPLITSKO-DALMATINSKOJ ŽUPANIJ OD 2015. DO 2019. GODINE

BRUNA ČAVKA¹, Marija Drmić¹, Katarina Šiško Kraljević², Maja Miškulin¹

¹ Medicinski fakultet Osijek, Osijek, Hrvatska

² Nastavni zavod za javno zdravstvo Splitsko-dalmatinske županije, Split, Hrvatska
bruna.cavka@yahoo.com

UVOD

Mikrosporoza je gljivična infekcija kože i pripadajućih struktura koju uzrokuju vrste roda *Microsporum*. Najčešće izolirana vrsta je plijesan *Microsporum canis*, zoofilni dermatofit koji primarno inficira životinje te se s takve zaražene životinje prenosi na čovjeka. Bolest se manifestira u obliku dermatofitoze vlasišta i neobraslih dijelova kože. Humani nositelji kod ove vrste nisu mogući jer je čovjek njegov slučajni domaćin. Laboratorijska dijagnostika temelji se na izravnoj mikroskopiji ljuščica kože ili zahvaćenih vlasi te kultivaciji na odgovarajućim hranjivim podlogama. Liječenje ovisi o kliničkoj slici, odnosno opsegu zahvaćenog područja te će se prema tome odrediti terapija antimikotskim mastima ili šamponom ili oralna terapija. Najbolja prevencija kod dermatofitoza je higijena kućnih ljubimaca te rano prepoznavanje i pravovremeno liječenje kako bi se izbjegle infekcije ljudi.

CILJ

1. Prikazati laboratorijsku dijagnostiku mikrosporoze. 2. Ispitati učestalost mikrosporoze u populaciji Splitsko-dalmatinske županije u razdoblju od 1.1.2015. do 31.12.2019. godine. 3. Prikazati demografska obilježja oboljelih te učestalost obolijevanja prema mjesecima tijekom kalendarske godine.

MATERIJALI I METODE

Pregledom arhive Službe za kliničku mikrobiologiju NZJZ Splitsko-dalmatinske županije u istraživanje je bilo uključeno 198 ispitanika na području SDŽ kojima je u razdoblju od 1. 1. 2015. do 31. 12. 2019. godine utvrđena mikrosporoza uzrokovana vrstom *Microsporum canis* u Laboratoriju za dijagnostiku gljivičnih infekcija Službe za kliničku mikrobiologiju NZJZ SDŽ. Iz spomenute arhive dobiveni su demografski podatci kao i podatci o vremenu obolijevanja svakog pojedinog uključenog ispitanika. Nakon uzorkovanja pripremio se preparat za mikroskopski pregled. Klinički uzorak se na predmetnom stakalcu promiješao s 15 % -tnom otopinom KOH-a te se mikoskopirao. Uz nativni preparat priređen je i obojeni uz pomoć Parker tuša koji boji hife i druge komponente. Kultivacija je zlatni standard dijagnostike gljiva. Dva najčešća agara koja se koriste su Sabouraud agar s dodatkom antibiotika i medij za izolaciju dermatofita (DTM). Podloga s uzorkom inkubira se na 28 °C 2 do 4 tjedna nakon čega se identificira uzročnik na temelju mikroskopskih i makroskopskih svojstava

REZULTATI I ZAKLJUČAK

Od 198 ispitanika 43,4 % oboljelih bili su muškarci, a 56,6 % su bile žene. Među oboljelima najviše je bilo djece od 1 - 9 godina (60,1 %), a najviše se oboljevalo tijekom jeseni (42,4 %) i zime (25,8 %) tj. tijekom listopada, studenog i prosinca. Žene su sklonije mikrosporozi neobraslih dijelova kože (68,8 %), a muškarci mikrosporozi vlasišta (66,3 %). Djeca su za razliku od odraslih više oboljevala od mikrosporoze vlasišta (56,6 %) koji su više oboljevali od mikrosporoze neobraslih dijelova kože (94,4 %).

KLJUČNE RIJEČI

dermatofiti; dermatofitoza; *Microsporum canis*; mikrosporoza

P15

USPOREDBA KONCENTRACIJE KOLESTEROLA U KAPILARNOJ I VENSKOJ KRVI

Marija Hren¹, Maja Ćurčić¹, IVANA MARUŠIĆ¹, Jelena Culej¹

¹ Poliklinika Breyer
marija.matok095@gmail.com

UVOD

Kolesterol je neophodan u sintezi hormona i žučnih kiselina, a u staničnim membranama održava njihov integritet. Međutim, povišena koncentracija povezuje se s rizikom od nastanka kardiovaskularnih bolesti. U svrhu ranog probira kardiovaskularnih bolesti, određivanje ukupnog kolesterola uvedeno je kao obavezna pretraga prije upisa u prvi razred osnovne škole.

CILJ

Vensko uzorkovanje stvara nelagodu kod djece, stoga je cilj ove analize bio ispitati postoji li statistički i klinički značajna razlika u koncentraciji serumskog kolesterola dobivenog iz venske i kapilarne krvi iste osobe.

MATERIJALI I METODE

Enzimatska metoda. Mjerenje spektrofotometrijski na 540/600 nm. na analizatoru DxC 700 proizvođača Beckman Coulter Ispitanici: Odrasle osobe koji u povijesti bolesti nemaju zabilježene visoke vrijednosti kolesterola niti su na terapiji. Vađenje krvi natašte nije bio uvjet. Rezultati su obrađeni u statističkom programu MedCalc, Ostend, Belgium, koristeći Passing Bablok regresiju te Wilcoxonov test za parne uzorke. Također, zabilježena je učestalost hemolize u ispitivanim uzorcima.

REZULTATI I ZAKLJUČAK

Jednadžba pravca PB regresija: ne ukazuje na prisutnost konstantnog niti proporcionalnog odstupanja. Nije uočena statistički značajna razlika između kolesterola mjenenog u uzorku venskog naspram kapilarnog porjekla. Jaka hemoliza je zabilježena kod jednog uzorka što je rezultiralo većim odstupanjem (7,3%) . Najveće apsolutno odstupanje iznosilo je 4% što je manje od intraindividualne biološke varjabilnosti 5,98% (Ricos i sur) Ovo ispitivanje upućuje na to da ne postoji statistički ni klinički značajna razlika u koncentraciji kolesterola između venskog i kapilarnog uzorka. Kapilarni uzorak prikladan je za određivanje koncentracije kolesterola čak i za blago hemolizirane uzorke. Uzorke sa jakom hemolizom treba odbiti te ili ponoviti kapilarno uzorkovanje ili uzeti venski uzorak.

KLJUČNE RIJEČI

Kolesterol, kapilarna krv, venska krv, enzimatska metoda

TAMARA VUKOSAVLJEVIĆ¹, Jolene Christina Bannister¹, Lorena Honović¹¹ Opća bolnica Pulatamara.vukosavljevic@obpula.hr**UVOD**

Zarazna bolest COVID-19 (engl. Coronavirus Infectious Disease 2019) uzrokovana je koronavirusom SARS-CoV-2. Kliničke slike oboljelih variraju od blagih, umjerenih do teških i kritičnih slučajeva s nastupom respiracijskog zatajenja, razvojem ARDS-a (engl. Acute Respiratory Distress Syndrome), prisutnošću šoka i zatajenja bilo kojeg organa koje zahtijeva intenzivno praćenje i bolničko liječenje. Jedna od najčešće provedenih laboratorijskih pretraga je određivanje razine plinova iz arterijske krvi (acidobazna ravnoteža, ABS), vrijedan pokazatelj respiracijskog statusa bolesnika i eventualnih metaboličkih poremećaja. Oksigenacijski status procjenjuje se pomoću vrijednosti parcijalnog tlaka kisika (pO₂) i saturacije hemoglobina kisikom (sO₂). Temeljem informacija dobivenih ABS-om i povezanim mjerenjima donose se kliničke odluke za procjenu i praćenje stanja kritično oboljelih pacijenata.

CILJ

Cilj ovog rada je retrospektivno prikazati značaj i učestalost poremećaja ABS-a u oboljelih od bolesti COVID-19 koje su mjerene kao POCT (engl. Point of Care Testing) pretrage pri COVID 19 odjelu Opće bolnice Pula tijekom godine dana te prikazati dinamiku mjerenih vrijednosti prije i nakon potpomognute oksigenacije.

MATERIJALI I METODE

Obradena su 32 nasumično odabrana pacijenta (18 muškaraca i 14 žena, median starosti 69 i 68,5 godina) koji su liječeni i potpomognutom oksigenacijom niskog i/ili visokog protoka kisika. Određivanje ABS-a iz arterijske krvi provedeno je višekratno, dnevno, na analizatoru GEM Premier 3500 (Instrumentation Laboratory, Bedford, SAD) unutar 15 minuta od uzorkovanja. Kao pojedinačni parametri od interesa, izdvojeni su pH, pO₂ i sO₂. Za statističku obradu podataka korišteni su programi Excel i MedCalc, a rezultati iskazani srednjom vrijednosti i postotkom.

REZULTATI I ZAKLJUČAK

Početnim mjerenjem ABS-a pri prijemu u bolnicu nađena je alkalemija u 63% pacijenata (pH >7,35), acidemija u 3% (pH <7,35), a 34% je imalo pH unutar referentnih vrijednosti (pH 7,35-7,45). Dodatnom analizom početnih vrijednosti pH, pCO₂ i HCO₃ utvrđena je respiratorna alkalozna u 37% slučajeva, metabolička alkalozna u 15% slučajeva te miješani poremećaj u 10% slučajeva. Od početka do kraja liječenja, vrijednosti pO₂ kretale su se od 6,5 do 29,7 kPa za muškarce te od 5,0 do 21,7 kPa (RI=11,0 do 14,4kPa) za žene, dok se saturacija kisikom (RI = 95 do 98%) kretala od 89 do 100% za muškarce i od 75 do 100% za žene. Visoka stopa poremećaja acidobazne ravnoteže kod COVID-19 pacijenata primjetna je već na početku liječenja, najviše u vidu respiratorne i metaboličke alkalozne. Određivanjem ABS-a može se brzo i relativno jeftino odrediti početno stanje oksigenacije pacijenata, dati prognostička procjena te redovito pratiti kritično oboljele pacijente. Kod težih oblika bolesti pridonosi boljoj odluci pri primjeni oksigenoterapije i korekciji metaboličkih poremećaja.

KLJUČNE RIJEČI

COVID-19, SARS-CoV-2, acidobazna ravnoteža, ABS

ANALITIČKA VERIFIKACIJA ANALIZATORA COBAS PURE ZA ODREĐIVANJE TUMORSKIH BILJEGA CA 19-9, CEA I TPSA

Petra Medač Čorak¹, NIKOLINA KOČNAR¹, Benjamin Ćorković¹, Velimir Belčić¹

¹ Poliklinika Medikol
petra.medac@gmail.com

UVOD

CA 19–9 je tumorski biljeg koji se koristi za otkrivanje kolorektalnog karcinoma, procjenu terapijskog odgovora u bolesnika s uznapredovalim karcinomom pankreasa i praćenje recidiva. Koncentracija u krvi može biti povišena i pri drugim zloćudnim novotvorinama probavnog trakta. Karcinoembrionalni antigen (CEA) može biti povišen kod melanoma, limfoma i karcinoma (gušterače, želuca, vrata maternice, bubrega, štitnjače, jetre, jajnika, pluća i dojke). Kod onkoloških pacijenata, koncentracije CEA u krvi u korelaciji su s odgovorom na terapiju te pojavom recidiva. PSA je tkivno specifičan biljeg koji se koristi za otkrivanje i praćenje rezultata liječenja benignih (prostatitisa, benigne hiperplazije) i malignih promjena prostate te pojavi recidiva.

CILJ

Cilj rada je analitička verifikacija imunokemijske metode (ECLIA) za određivanje CA 19-9, CEA i ukupnog PSA na analizatoru Cobas Pure (Roche, Švicarska).

MATERIJALI I METODE

Verifikacija je provedena prema protokolu EP15-A2 (CLSI) i uključivala je ispitivanje preciznosti unutar serije (ponovljivost), preciznosti iz dana u dan (međupreciznost), točnost i usporedbu uzoraka pacijenata s analizatorom Cobas e601 (Roche, Švicarska). Korišteni su komercijalni kontrolni uzorci Seronorm Immunoassay Lyo u dvije razine: L-1 i L-2. (Sero, Norveška). Statistička analiza uključuje izračun srednje vrijednosti mjerenja, koeficijenta varijacije (CV%) i Passing-Bablok regresijsku analizu.

REZULTATI I ZAKLJUČAK

Preciznost u seriji iskazana je koeficijentom varijacije koji za sve tumorske markere iznosi $CV < 2\%$. Međupreciznost je iskazana koeficijentom varijacije koji iznosi $CV_i < 6,4\%$. Točnost je izražena relativnim odstupanjem od ciljne vrijednosti (eng. bias) pri čemu dobivene vrijednosti ulaze u zadane kriterije prihvatljivosti. Passing-Bablokovom regresijskom analizom utvrđeno je da ne postoji konstantna razlika u izmjerenim vrijednostima za CA 19-9 i tPSA (95% CI obuhvaća 0) dok postoji za CEA (95% CI ne obuhvaća 0). Za CA 19-9 i CEA ne postoji proporcionalno odstupanje u izmjerenim vrijednostima (95% CI obuhvaća 1), ali postoji za tPSA (95% CI ne obuhvaća 1).

KLJUČNE RIJEČI

Verifikacija; Cobas Pure; točnost; preciznost; CA 19-9, CEA, tPSA, Passing-Bablok regresija.

P18

ANALITIČKA VERIFIKACIJA ANALIZATORA COBAS PURE ZA ODREĐIVANJE KALIJA, KREATININA I C-REAKTIVNOG PROTEINA

Petra Medač Čorak¹, BENJAMIN ČORKOVIĆ¹, Nikolina Kočnar¹, Velimir Belčić¹

¹ Poliklinika Medikol
petra.medac@gmail.com

UVOD

Kalij je glavni kation stanične tekućine čija narušena koncentracija može rezultirati abnormalnim srčanim ritmom ili zastojem srčanog rada. Određuje se pacijentima koji imaju simptome nepravilnog rada srca i mišićne slabosti ili uzimaju terapiju koja može utjecati na razinu kalija (hipertenzija, bolesti bubrega). Kreatinin je neovisni pokazatelj glomerularne filtracije. Određuje se pri procjeni funkcije bubrega, dijagnostici bolesti bubrega i za praćenja efikasnosti terapije. C-reaktivni protein (CRP) je jedan od najosjetljivijih proteina akutne faze upale. U akutnoj upalnoj reakciji razina CRP-a u krvi naraste za 6-9 sati, a maksimalni porast postigne nakon 48 sati. Koristi se za dijagnostiku akutnih bolesti i kroničnih upalnih stanja te za otkrivanja upalnog sistemskog odgovora kao i praćenje uspješnosti terapije bez obzira na uzrok upale.

CILJ

Cilj rada je verifikacija ISE indirektne, spektrofotometrijske i imunoturbidimetrijske metode na analizatoru Cobas Pure (Roche, Švicarska) za određivanje kalija, kreatinina i CRP-a.

MATERIJALI I METODE

Verifikacija je provedena za kalij, kreatinin i CRP prema protokolu EP15-A2 (CLSI) i uključivala je ispitivanje preciznosti unutar serije (ponovljivost), preciznosti iz dana u dan (međupreciznost), točnost i usporedbu uzoraka pacijenata s analizatorom OLYMPUS 2700 plus (Beckman Coulter, Japan). Za određivanje K i kreatinina korišteni su komercijalni kontrolni uzorci MAS ChemTRAK H u dvije razine: L-1 i L-2 (Thermo Scientific, SAD), dok su za određivanje CRP-a korišteni komercijalni kontrolni uzorci PCC u dvije razine: L-1 i L-2 (Roche, Švicarska). Statistička analiza uključuje izračun srednje vrijednosti mjerenja, koeficijenta varijacije (CV%) i Passing-Bablok regresijsku analizu.

REZULTATI I ZAKLJUČAK

Preciznost u seriji iskazana je koeficijentom varijacije CV (%) koji za sve izmjerene parametre iznosi $CV < 1,2\%$. Međupreciznost iskazana je koeficijentom varijacije koji iznosi $CV_i < 2,76\%$. Točnost je izražena relativnim odstupanjem od ciljne vrijednosti (eng. bias) pri čemu dobivene vrijednosti ulaze u zadane kriterije prihvatljivosti. Passing-Bablokovom regresijskom analizom utvrđeno je da postoji konstantna razlika u izmjerenim vrijednostima za K, kreatinin i CRP (95% CI ne obuhvaća 0). Ni za jedan izmjereni parametar ne postoji proporcionalno odstupanje u izmjerenim vrijednostima (95% CI obuhvaća 1).

KLJUČNE RIJEČI

Verifikacija; Cobas Pure; točnost; preciznost; kalij, kreatinin, CRP, Passing-Bablok regresija.

PREVALENCIJA FENOTIPSKIH VARIJANTI ASIJALOTRANSFERINA U SERUMU

SANDRA MATIJEVIĆ¹, L. Cenko¹, I. Domitrek¹

¹ KBC Zagreb, Zagreb, Hrvatska
sandra.matijevic3@gmail.com

UVOD

Asijalotransferin, glikoforma transferina bez sijalinskih kiselina, je specifičan biljeg likvoreje. Primjenom visokorezolucijske metode izoelektričnog fokusiranja s imunofiksacijom za dokazivanje asijalotransferina u uzorcima sa sumnjom na likvoreju uočeni su pacijenti s fenotipskim varijantama asijalotransferina. Nije poznata prevalencija opisanog fenotipa asijalotransferina u serumu kao ni njegova povezanost sa statusom željeza.

CILJ

Cilj rada je bio ispitati prevalenciju fenotipskih varijanti asijalotransferina seruma u presječnom uzorku pacijenata i odrediti status željeza.

MATERIJALI I METODE

U radu su analizirani uzorci seruma pacijenata preostali nakon rutinske analize statusa željeza s normalnim vrijednostima CRP-a (<5 mg/L). Koncentracije željeza, UIBC, transferina, feritina i CRP su određivane standardnim metodama na uređaju Alinity ci, Abbott i uz korištenje reagensa istog proizvođača. Fenotipske varijante asijalotransferina su analizirane in-house metodom izoelektričnog fokusiranja na ultratankom poliakrilamidnom gelu u pH gradijentu 3-10 uz konstantan napon od 1800V. Uzorci seruma su razrijeđeni 20x i aplicirani na gel, a po završetku izoelektričnog fokusiranja razdvojene frakcije su imunoprecipitirane pomoću specifičnog antiseruma na transferin (Bio Rad) te vizualizirane metodom bojenja sa srebrnim nitratom.

REZULTATI I ZAKLJUČAK

Fenotipske varijante asijalotransferina prikazuju se na gelu kao dvije vrpce u pH području očekivanom za asijalotransferin. Kod 4 od ukupno 24 (16,6%) ispitivanih uzoraka seruma pacijenata postavljena je sumnja na prisutnost fenotipskih varijanti asijalotransferina. U skupini pacijenata s fenotipskom varijantom asijalotransferina izmjerena je značajno niža koncentracija željeza (4 (3-7) $\mu\text{mol/L}$) u odnosu na pacijente bez varijante (10 (5,5-13,5) $\mu\text{mol/L}$) ($P=0,039$) što može upućivati na povezanost deficita željeza i pojave varijanti asijalotransferina. Istovremeno, u radu nije dokazana statistički značajna razlika u koncentraciji feritina između skupina pacijenata sa i bez fenotipskih varijanti asijalotransferina ($P=0,115$). No, zbog malog broja analiziranih seruma rezultate ove pilot studije bi trebalo ispitati na većem broju uzoraka.

KLJUČNE RIJEČI

izoelektrično fokusiranje, asijalotransferin, željezo, fenotipizacija transferina

P20

ANALIZA PRISUTNOSTI ALKOHOLA U UZORCIMA KRVI U ZAVODU ZA MEDICINSKO LABORATORIJSKU DIJAGNOSTIKU KBC-A SPLIT OD 2015. DO 2022. GODINE

JELENA KATAVIĆ¹, Livija Slišković², Leida Tandara¹, Ivan Jerković²

¹ Klinički bolnički centar Split, Zavod za medicinsko laboratorijsku dijagnostiku

² Sveučilište u Splitu, Sveučilišni odjel za forenzične znanosti

j2katavic@gmail.com

UVOD

Alkohol kao dopušteno sredstvo ovisnosti veliki je javnozdravstveni i socioekonomski problem, no može utjecati na tijek i ishod liječenja pri zaprimanju pacijenta u zdravstvene ustanove.

CILJ

Utvrđiti prevalenciju i distribuciju te trend uporabe alkohola u ovisnosti o vremenu i obilježjima pacijenata (dob, spol) kojima je u Zavodu za medicinsko laboratorijsku dijagnostiku KBC-a Split učinjena analiza alkohola u krvi.

MATERIJALI I METODE

Iz interne baze laboratorijsko informatizacijskog sustava BioNet Zavoda za medicinsko laboratorijsku dijagnostiku KBC-a Split retrospektivno su se prikupili anonimizirani rezultati analiza svih punoljetnih pacijenata kojima je u periodu od 2015. do 2022. godine zatraženo određivanje prisutnosti alkohola u biološkom uzorku krvi te podatci koji se odnose na datum uzorkovanja, spol i dob pacijenata. Dobiveni podatci su se statistički obradili uzevši u obzir demografska obilježja pacijenata, koncentraciju alkohola te kategorije djelovanja alkohola ovisno o unesenoj količini.

REZULTATI I ZAKLJUČAK

Ukupno je obavljeno 9503 testiranja na alkohol. U promatranom razdoblju od 2015. godine do 2022. dolazi do porasta analiza za alkohol za 10 %, sa 1185 testiranja u 2015. na 1309 u 2022. godini. Medijan dobi testiranih osoba bio je 46 godine (raspon 18 – 95), pri čemu su muškarci činili 72 %. Od ukupno 9503 testirana pacijenta 5096 ih je imalo koncentraciju alkohola veću od nula (53,63 %). Za pozitivne osobe, srednja vrijednost iznosila je 1,97 g/kg (SD = 1,15), što znači da su pozitivne osobe u prosjeku bile u pijanome stanju. Regresijska analiza pokazala je da spol i dob imaju statistički značajan učinak na koncentraciju alkohola $P < 0,001$, pri čemu je koncentracija manja u žena, dok je povećanje dobi povezano sa smanjenjem koncentracije alkohola. Udio pozitivnih testova, kao i dobna razdioba rezultata, upućuju na to da je potrebno kontinuirano praćenje upotrebe alkohola prikupljanjem i analizom podataka vezanih za konzumaciju alkohola, dobivenih koristeći se različitim metodologijama te objavljivanje sveobuhvatnih izvješća o konzumaciji alkohola među različitim dobnim skupinama. To bi trebalo pridonijeti poboljšanju i usmjeravanju javnozdravstvenih akcija na najizloženije skupine, a sve radi postizanja smanjenja štetnih učinaka konzumacije alkohola.

KLJUČNE RIJEČI

sredstva ovisnosti, alkohol, medicinsko laboratorijska dijagnostika, Split

MJERENJE KLORIDA U ZNOJU UPOTREBOM RAZLIČITIH METODA – PRIKAZ SLUČAJA CISTIČNE FIBROZE

ENA LIBER¹, Marija Mitrić¹, Dorotea Strelar¹

¹ Dječja bolnica Srebrnjak, Zagreb, Hrvatska
enaliber28@gmail.com

UVOD

U postavljanju dijagnoze cistične fibroze prvu liniju dijagnostike čini dokazivanje povećane koncentracije klorida u znoju. Koncentracija klorida u znoju može se određivati upotrebom komercijalno dostupnih kitova koji su metodološki dvojaki. U jednoj metodi se koncentracija klorida određuje mjerenjem provodljivosti znoja i to je tzv. konduktometrijska metoda. Druga metoda koristi kulometrijsku titraciju kojom se direktno određuje koncentracija klorida u znoju i ona se smatra referentnom. Obje metode koriste pilokarpinsku iontoforezu za poticanje žlijezda znojnica na lučenje znoja.

CILJ

Cilj ovog rada je pokazati usporedivost dviju metoda u dokazivanju cistične fibroze. Uspoređivane metode su bile konduktometrijska metoda i metoda kulometrijske titracije.

MATERIJALI I METODE

Četverogodišnjoj pacijentici kojoj je potvrđena dijagnoza cistične fibroze rađena je pretraga kloridi u znoju. Mjerenja klorida u znoju provedena su na dva načina: jednokomponentnim postupkom mjerenja provodljivosti i dvokomponentnim postupkom direktnog mjerenjem koncentracije klorida u znoju nakon prikupljanja znoja. Jednokomponentno mjerenje se radilo konduktometrijskom metodom upotrebom sustava Nanoduct (ELITech group Wescor, SAD) u kojem su pilokarpinska iontoforeza i mjerenje koncentracije klorida integrirane. Metoda se temelji na mjerenju provodljivosti znoja. Dvokomponentno mjerenje sastojalo se od prikupljanja znoja pomoću Macroduct sustava (ELITech group Wescor, SAD) i direktnim kvantitativnim mjerenjem klorida u znoju metodom kulometrijske titracije na analizatoru Chlorocheck (ELITech group Wescor, SAD). Dvokomponentna metoda je u skladu s preporukama nacionalnih smjernica Hrvatskog društva za medicinsku biokemiju i laboratorijsku medicinu.

REZULTATI I ZAKLJUČAK

U prvom mjerenju konduktometrijskom metodom izmjerena koncentracija klorida u znoju bila je 141 mmol/L. U drugom mjerenju provedenom mjesec dana nakon prvog, u kojem se koristila metoda kulometrijske titracije s odvojenim prikupljanjem znoja, izmjerena koncentracija klorida u znoju bila je 97 mmol/L. Razlika u koncentracijama klorida posljedica su metodološke razlike. U obje metode izmjerena je povećana koncentracija klorida u znoju, a rezultat je bio u skladu s kliničkom slikom. Zaključak: Iako je metoda kulometrijske titracije metoda izbora za određivanje klorida u znoju, konduktometrijska metoda može poslužiti kao metoda probira, a rezultati koji upućuju na mogućnost prisutnosti cistične fibroze ili nisu u skladu s kliničkom slikom moraju se potvrditi referentnom metodom kulometrijske titracije. Obje metode zajedno s kliničkom slikom omogućavaju pouzdano dijagnosticiranje ove bolesti.

KLJUČNE RIJEČI

cistična fibroza, kloridi u znoju, kulometrijska titracija

P22

POBOLJŠANJA U PREDANALITIČKIM POSTUPCIMA U MEDICINSKO- BIOKEMIJSKOM LABORATORIJU - PERSPEKTIVA IZ PRAKSE

MATIJA SAKALJ¹, Davor Tepeš¹

¹ KBC Zagreb, Zagreb, Hrvatska

Dugogodišnje iskustvo u radu u predanalitičkim postupcima u medicinsko-biokemijskom laboratoriju kliničke bolnice omogućilo je uočavanje poteškoća, a što ujedno ukazuje na mogućnosti poboljšanja i pružanju usluga za korisnike i bolesnike. Naša opažanja u medicinsko-biokemijskom laboratoriju velike bolnice, s velikim opsegom pretraga i s velikim brojem korisnika/bolesnika su: nedovoljan broj zdravstvenih djelatnika koji uzorkuju krv (vadioci), nedovoljan broj djelatnika na administrativnom upisu za pretrage, liste čekanja za određene pretrage i vrijeme potrebno za izradu nalaza, poteškoće informatičke i administrativne povezanosti unutar zdravstvene ustanove, ali i druge. Neke od ovih poteškoća je vrlo vjerojatno moguće riješiti, primjerice zapošljavanjem dodatnog broja zdravstvenih djelatnika srednje stručne spreme, a što bi omogućilo brzu uslugu i brzi protok korisnika na prijemu i vađenju krvi. Na taj način se mogu izbjegnuti i riješiti gužve, čekanje i nezadovoljstvo korisnika laboratorijskih usluga i dodatnog stresa na prijemu za djelatnike. Bolje rješenje informatičkog sustava i administrativno povezivanje unutar bolničke ustanove se također doima izvedivom, a što bi omogućilo pružanje zdravstvene skrbi temeljem jedinstvene uputnice. Za usluge unutar jedne zdravstvene ustanove bi moralo biti dostatno jedna uputnica za sve potrebe i jedno mjesto za vađenje krvi i preuzimanje drugih uzoraka. Budući da samo neki bolnički sustavi pružaju laboratorijske usluge specifičnih i skupih pretraga koje su važne u stanjima koja nisu učestala, bolje planiranje u zdravstvenom sustavu bi moglo omogućiti učinkovitiju zdravstvenu skrb s većim zadovoljstvom svih dionika. Prepoznavanje da u području laboratorijske usluge zdravstvene skrbi postoji prostor za promjene, nezavisno od neposredne izvedivosti, dugoročno omogućuje neprestano poboljšanje i stvaranja preduvjeta zadovoljstva za korisnike zdravstvene usluge i djelatnika u zdravstvu.

UČESTALOST HEMOLIZE U UZORCIMA ZA HITNE PRETRAGE - PREDNOST ELEKTRONIČKOG PRAĆENJA

ZDRAVKO VRBANIĆ¹, Marijana Dijanić¹, Ivana Barišić Lapić¹

¹ Klinički bolnički centar Zagreb, Zagreb, Hrvatska
vrbanicz34@gmail.com

UVOD

Uzorci za hitne pretrage za potrebe zdravstvene skrbi bolesnika u bolnici se prikupljaju na dva radilišta. Hemoliza u uzorcima se može ustanoviti automatizirano i odrediti kad je uzorak neprihvatljiv uslijed hemolize, te ponoviti vađenje. Jedan od pokazatelja kvalitete u radu medicinskog laboratorija je praćenje učestalosti hemolize u uzorcima s ciljem da je manja od 1%, sukladno preporukama struke.

CILJ

Ispitati učestalost hemolize u uzorcima krvi za hitne pretrage na dva usporedna radilišta bolnice u dva razdoblja od 6 mjeseci, te usporediti s postavljenim ciljem kvalitete.

MATERIJALI I METODE

U obradu su uključeni podatci za broj zaprimljenih uzoraka i evidentiranih hemoliza u tim uzorcima na dva radilišta za hitne pretrage za razdoblje siječanj - lipanj dvije uzastopne kalendarske godine. Učinjena je usporedba udjela (engl. ratio) hemolize i neprihvatljive hemolize za dva razdoblja i između dva radilišta. Rezultati su uspoređeni s ciljem hemolize manje od 1%.

REZULTATI I ZAKLJUČAK

Statistička analiza udjela je pokazala da nije bilo razlike u učestalosti hemolize samo za prvo razdoblje na radilištu A, ali je učestalost neprihvatljive hemolize bila statistički značajno veća za neprihvatljivu hemolizu između dva razdoblja ($p < 0,001$). Za radilište B je nađeno da je udio bio statistički značajno ($p < 0,001$) veći za hemolize, a manji za neprihvatljive hemolize između dva razdoblja praćenja. Za oba razdoblja je na radilištu A udio hemoliza i neprihvatljivih hemoliza bio statistički značajno veći ($p < 0,001$) u usporedbi s radilištem B. Pojavnost hemoliza je za sada veća od postavljenog cilja i potrebno je sagledati moguće uzroke i rizike odstupanja od ciljnog rezultata kvalitete, te uvesti mjere poboljšanja.

	Razdoblje 1		Razdoblje2	
	Hemoliza (%)	Neprihvatljiva hemoliza (%)	Hemoliza (%)	Neprihvatljiva hemoliza (%)
Radilište A	7,95	4,05	8,22	4,54
Radilište B	3,72	2,06	4,35	1,82

KLJUČNE RIJEČI

Ključne riječi: pokazatelj kvalitete, hemoliza, hitne pretrage

VALERIJA VIDMAR¹, Anđelka Đira¹, Ivana Žugčić¹, Ivana Franić Šimić¹, Iva Semren¹, Sanja Davidović-Mrsić¹

¹ KBC Zagreb, Zagreb, Hrvatska
valerija.vidmar@gmail.com

UVOD

CD138 (sindekan -1) leukocitni je diferencijacijski biljeg, glikoprotein obložen heparin sulfatom, izražen na membrani plazma stanica. Koristi se kod detekcije multiplog mijeloma (MM), zloćudne monoklonalne tumorske bolesti koju karakterizira proliferacija plazma stanica u koštanoj srži što može dovesti do osteolitičkih promjena u kostima te prisutnost monoklonskih bjelančevina u serumu i urinu.

CILJ

U ranom stadiju MM nema specifičnih simptoma pa je važna rana detekcija bolesti, a prognoza i terapija često ovise o prisutnosti ili odsutnosti određenih genetskih promjena. Izolirane plazma stanice koriste se u metodi fluorescentne in situ hibridizacije.

MATERIJALI I METODE

Metoda izolacije CD138+ plazma stanica dizajnirana je na principu pozitivne selekcije iz bioptata koštane srži. Hipotoničnom otopinom amonij klorida vrši se liza eritrocita, a preostale stanice, leukociti, inkubiraju se tetramernim kompleksom protutijela i magnetskim česticama obloženim dekstranom. U koktelu se također nalazi antitijelo za Fc receptor zbog minimalizacije nespecifičnih vezanja. Epruveta se umetne u EasySep magnet i uslijed magnetskog polja sve plazma stanice adheriraju na stijenkku epruvete (pozitivna selekcija), a nevezane stanice se dekantiraju (negativna selekcija).

REZULTATI I ZAKLJUČAK

Proučavanje citogenetskih abnormalnosti kariotipizacijom je izazov u MM zbog niske proliferativne aktivnosti malignih plazma stanica in vitro, odnosno niske mitotičke aktivnosti u 24h kulturi stanica KS. Izolacija CD138+ plazma stanica pomoću kita (EasySep Human CD138 Positive Selection Kit) iz bioptata KS najučinkovitija je metoda u otkrivanju prognostički značajnih genetskih abnormalnosti, brz je i jednostavan način detekcije normalnih i malignih plazma stanica. Izolirane stanice dobivene ovom metodom koriste se za neizostavnu analizu metodom fluorescentne in situ hibridizacije.

KLJUČNE RIJEČI

CD 138, plazma stanica, multipli mijelom, koštana srž, pozitivna selekcija, fluorescentna in situ hibridizacija

METODA FLUORESCENTNE *IN SITU* HIBRIDIZACIJE U DIJAGNOSTICI AKUTNIH LEUKEMIJA

MAJA KUŠPILIĆ¹, Anđelka Đira¹, Valerija Vidmar¹, Ivana Žiger¹, Ana Marija Miličević¹, Ines Mekota¹, Sanja Novak¹, Tihomir Pavlović¹, Ivana Žugčić¹

¹ KBC Zagreb, Zagreb, Hrvatska
maja.kuspilic@kbc-zagreb.hr

UVOD

Fluorescentna in situ hibridizacija (FISH) jedna je od metoda molekularne genetike koja omogućava direktnu identifikaciju i vizualizaciju dijelova gena, gena, specifičnih kromosomskih regija i cijelih kromosoma. Metoda omogućava analizu promjena ne samo u metafaznim kromosomima nego i u interfaznim jezgrama. Metoda FISH temelji se na hibridizaciji dviju komplementarnih sekvenci, što je jedno od osnovnih načela molekulske genetike. Upotrebom specifičnih proba dobiju se kvantitativne i kvalitativne informacije o promjenama u genomu.

CILJ

Odrediti vrijednost metode FISH-e u dijagnostici hitnih stanja kao što su akutne leukemije djece i odraslih. Pokazati dijagnostičku, prognostičku i terapijsku važnost dobivenih rezultata metodom FISH-e.

MATERIJALI I METODE

Akutne leukemije djece i odraslih često zahtijevaju brzu i pouzdanu molekularnu dijagnostiku. Metoda interfazne FISH-e primjenjuje se u rutinskoj dijagnostici hitnih stanja, a unutar 4-5 sati moguće je dobiti kvantitativan i kvalitativan nalaz promjena genoma. Ciljano pretraživanje uzorka koštane srži FISH-om na česte ili specifične promjene genoma ima dijagnostičku, terapijsku, prognostičku ali i klasifikacijsku važnost. Metoda se koristi također za definiranje minimalne ostatne bolesti (MOB) u transplantiranih bolesnika te za definiranje relapsa bolesti. Dijagnostički algoritmi uključuju uz dobru laboratorijsku praksu i vrijeme u kojem se dobije nalaz o traženoj promjeni genoma.

REZULTATI I ZAKLJUČAK

Svjetska zdravstvena organizacija (The World Health Organization, WHO) definirala je specifične i klinički važne promjene genoma koje se ciljano pretražuju u određenog tipa, podtipa akutnih leukemija. Sve akutne leukemije hitna su stanja i ciljano pretraživanje metodom I-FISH-e traje 4-6 sati. Pri tome isključuju se ili dokazuju specifične promjene genoma prema patomorfološkom nalazu. Metoda interfazne FISH-e dobila je još jednu dijagnostičku kategoriju „BRZI FISH“!

Zaključno metoda FISH-e postala je „zlatni standard“ u dijagnostici akutnih leukemija ali i drugih hematoloških bolesti jer dobiveni rezultati imaju dijagnostičku, terapijsku i prognostičku vrijednost.

KLJUČNE RIJEČI

FISH, akutne leukemije, hitna dijagnostika, „brzi FISH“

VALIDACIJA AUTOMATSKE METODE ZA SEDIMENTACIJU ERITROCITA

Ana Dreznjak¹, Diana Jelčić², Daniela Šupe Domic³, Tanja Šimleša²

¹ Odjel zdravstvenih studija, MLD, Sveučilište Split

² KBC Split - Zavod za medicinsku laboratorijsku dijagnostiku

³ KBC Split i Sveučilište Split - OZS, MLD

anadreznjak5@gmail.com

UVOD

Sedimentacija eritrocita je laboratorijska pretraga kojom se mjeri brzina odvajanja staničnih od plazmatskih krvnih sastojaka pod utjecajem gravitacije. Gustoća eritrocita je veća od gustoće plazme tako da se oni odvajaju na dno epruvete potiskujući plazmu prema gore. Procjena brzine sedimentacije eritrocita ima kliničku i patofiziološku vrijednost, a promjene ukazuju na promijenjenu ravnotežu elektrostatskih, gravitacijskih i viskozničkih sila krvnih sastojaka, a mjeri se u jedinici mm/h. Ubrzana sedimentacija eritrocita ukazuje na akutne i kronične infekcije, reumatske i maligne bolesti kao i degenerativne bolesti. Također, fiziološki povećanu sedimentaciju možemo uočiti i kod osoba starije životne dobi te trudnica. Snižena brzina sedimentacije eritrocita ukazuje na prirodne srčane anomalije i kongestivno zatajenje srca, policitemiju rubra vera, određene anemije (srpasta anemija i hipokromna mikrocitna anemija) te hipofibrinogenemije.

CILJ

Ovaj rad ima svrhu usporediti metode za sedimentaciju eritrocita; zlatni standard, Westergren metodu i automatiziranu metodu na uređaju iSED te na osnovu rezultata utvrditi djelotvornost metoda statistički obrađenim podacima analize.

MATERIJALI I METODE

U ovom istraživanju koje je provedeno na Zavodu za medicinsku laboratorijsku dijagnostiku Kliničkog bolničkog centra Split analizirano je 119 uzoraka pacijenata različite dobi. Uzorak je puna venska krv koja se uzorkovala u epruvetu od 2ml sa antikoagulansom etilenaminotetraoctena kiselina K3EDTA 3.6 mg te u epruvetu od 1.6 ml sa antikoagulansom natrijevim citratom 0.4 ml. Nakon uzorkovanja epruvete su homogenizirane laganim mješanjem. Kriterij isključenja bio je prisutnost mogućih ugrušaka ili hemoliza uzorka. Analiza se morala obraditi unutar 2 sata od venepunkcije. Uzorci venske krvi analizirani dvjema analitičkim metodama, Westergren metodom i automatskim analizatorom iSED Alcor Scientific.

REZULTATI I ZAKLJUČAK

U ovom istraživanju uspoređena je Westergren metoda sa automatiziranom metodom na uređaju iSED. Statistička analiza ukazala je na dobru korelaciju dvije metode ali i na odstupanja, nesukladnosti te sistemsku pogrešku mjerenja, stoga zaključujemo da automatizirana metoda na uređaju iSED nije prihvatljiva i ne može zamijeniti referentnu Westergren metodu

KLJUČNE RIJEČI

Sedimentacija eritrocita, Westergren metoda, analizator iSED

BROJ TROMBOCITA KAO PROGNOŠTIČKI ČIMBENIK U BOLESNIKA S METASTATSKIM KARCINOMOM DEBELOG CRIJEVA

DIJANA VARGANOVIĆ¹, Mirela Florijančić¹, Josipa Flam¹

¹ KBC Osijek, Osijek, Hrvatska
vdijana7@gmail.com

UVOD

Veliki broj studija pokazao je da je povećani broj trombocita povezan sa razvojem i progresijom kod mnogih karcinoma, te značajnim skraćanjem preživljenja. Trombocitoza i aktiviranje trombocita može se koristiti kao prognostički čimbenik kod bolesnika oboljelih od karcinoma debelog crijeva, a povezani su s lošijim preživljenjem do progresije bolesti i ukupnim preživljenjem. Porast broja trombocita je jedan od prvih, nespecifičnih znakova progresije maligne bolesti.

CILJ

Cilj našeg istraživanja je odrediti promjene u broju trombocita od dijagnoze do progresije bolesti, te na ukupno preživljenje kod bolesnika sa metastatskim karcinomom debelog crijeva, a kod kojih metastaze nisu operirane.

MATERIJALI I METODE

U razdoblju od tri godine (2010. - 2012.g.) iz povijesti bolesti bolesnika sa Zavoda za onkologiju i radioterapiju KBC Osijek dobiveni su podaci o dobi i spolu bolesnika, sijelu metastatske bolesti, te broju trombocita i drugih parametara krvne slike. Također su dobiveni podaci o načinu postavljanja dijagnoze, vremenu do progresije bolesti i datumu smrti.

REZULTATI I ZAKLJUČAK

U razdoblju od 2010.-2012.g. na Zavodu za onkologiju i radioterapiju KBC Osijek evidentirano je 907 bolesnika oboljelih od karcinoma debelog crijeva (463 sa dijagnozom Ca kolona i 454 sa dijagnozom Ca rektuma). Od tog broja 203 bolesnika je bilo sa dijagnozom metastatskog karcinoma, za 24 bolesnika su bili nepotpuni podaci o bolesti, laboratorijskim nalazima i smrti, te je broj ispitanika bio 179. Kod postavljanja dijagnoze prisustvo metastaza dokazano je kod 108 bolesnika, dok je kasnije metastaze razvio 71 bolesnik. Rezultati analize su pokazali statistički značajno utjecaj povišen broj trombocita na preživljenje promatranih bolesnika od dijagnoze bolesti do smrti (Kaplan-Meier test preživljenje, $P=0,002$). Zaključak: Povećan broj trombocita ima statistički značajan utjecaj na preživljenje promatranih bolesnika te može poslužiti kao dobar prognostički čimbenik na lošiju prognozu i preživljenje bolesnika s metastatskim karcinomom debelog crijeva. Analize podskupina pokazale su da je povišeni broj trombocita bio povezan s lošijom stopom preživljenja i kod primarnog kolorektalnog karcinoma i kod metastaza kolorektalnog karcinoma koje se mogu resektati. Povišeni broj trombocita predvidio je pogoršanje primarnog kolorektalnog karcinoma i resektabilne kolorektalne metastaze u jetri. Rezultati ove meta-analize usporedno sa provedenom studijom u KBC Osijek pokazuju da je kod raka debelog crijeva kraća stopa preživljenja povezana s povišenim brojem trombocita. (1) Od osoba kojima je karcinom dijagnosticiran unutar 6 mjeseci nakon krvne pretrage, 19,5% imalo je vrlo visok broj trombocita (gornjih 10 percentila). U analizi osjetljivosti, primijetili smo slične nalaze, s povezanosti s nekim vrstama raka među pojedincima s trombocitozom.

KLJUČNE RIJEČI

karcinom, karcinom debelog crijeva, metastaze, trombociti

P28

USPOREDBA AUTOMATIZIRANE METODE ZA BRZINU SEDIMENTACIJE (ESR) S WESTERGREN METODOM

SONJA PRISUDA¹, Vesna Kuić-Vadlja¹, Sanela Petrović¹, Jasna Štanfel¹

¹ KBC Osijek, Osijek, Hrvatska
sonja.prisuda@gmail.com

UVOD

Automatizirana metoda za mjerenje brzine sedimentacije eritrocita ESR (eng. erythrocyte sedimentation rate) na aparatu iSED (Biomax) mjeri agregaciju eritrocita u prvoj fazi sedimentacije eritrocita. Tada dolazi do stvaranja „Rouleaux“ formacija čijem bržem stvaranju doprinosi prisustvo upalnih proteina. Brzina stvaranja „Rouleaux“ formacija direktno je proporcionalna brzini sedimentacije eritrocita. Na rezultate ne utječe hematokrit (Htc) i mjerenje traje samo 20 sekundi.

CILJ

Usporediti automatiziranu ESR s referentnom Westergren metodom.

MATERIJALI I METODE

Izmjeren je ESR kod 29 ispitanika (12 žena i 17 muškaraca) s vrijednostima Htc u rasponu od 0,219 do 0,473. Za izradu automatizirane ESR koristili smo vacutainer s ljubičastim čepom K2 EDTA (Becton Dickinson). Za Westergren metodu vacutainer s crnim čepom 4 NC (BD) i jednokratne pipete Vacupeta.

REZULTATI I ZAKLJUČAK

Rezultate smo obradili statističkim testom Passing-Bablok pri čemu smo dobili sljedeće rezultate: $y = 0.86x + 0.43$ Interval pouzdanosti (Confidence interval - CI) pri tome iznosi: CI (proporcionalna razlika) $\rightarrow 0.71 - 0.97$ CI (stalna razlika) $\rightarrow -1.6 - 2.8$ U Bland-Altmanovom grafu srednja razlika između metoda je 5,2 mm/3.6 ks. Automatizirana metoda ESR usporediva je sa standardiziranom, referentnom metodom po Westergrenu. Postoji manja proporcionalna razlika koja nije statistički značajna. Razlog tome su niske vrijednosti Htc kod nekih ispitanika jer Htc ima utjecaj na rezultate kod Westergren metode, ali ne i kod automatizirane metode za određivanje ESR. Uz to postoji i veći rasap rezultata unutar referentnog intervala. Zbog toga je potrebno provesti ispitivanje na većem broju ispitanika s izraženom anemijom. Jedna od prednosti automatizirane metode ESR je što se koristi isti uzorak kao i za krvnu sliku (K2 EDTA) tako da nema nepotrebnog uzorkovanja dodatnih epruveta. Automatizirana metoda ESR je pouzdana jer nema utjecaja Htc na rezultate.

KLJUČNE RIJEČI

Brzina sedimentacije eritrocita, automatizirana metoda, Westergren metoda, hematokrit

SNIŽENA AKTIVNOST GLUKOZA-6-FOSFAT DEHIDROGENAZE KAO UZROK NOVOROĐENAČKE HEMOLITIČKE ANEMIJE - PRIKAZ SLUČAJA

SANELA PETROVIĆ¹, Vesna Kuić-Vadlja¹, Sonja Prisuda¹, Jasna Štanfel¹

¹ KBC Osijek, Osijek, Hrvatska
sancylab@gmail.com

UVOD

Glukoza-6-fosfat dehidrogenaza (G-6PDH) je enzim glikolitičkog puta koji je prisutan u svim stanicama. U eritrocitima nedostatak G-6PDH je najčešći poremećaj eritrocitnih enzima i predstavlja spolno X-vezanu nasljednu bolest. Snižena aktivnost G-6PDH se najčešće manifestira kao hemolitička anemija nakon akutnih infekcija i uzimanja lijekova koji djeluju kao oksidansi (antimalarici). Bolest se očituje hemolitičkom krizom.

CILJ

Utvrditi uzrok hemolitičke anemije kod novorođenog djeteta.

MATERIJALI I METODE

Na Pedijatrijski odjel KBC Osijek zaprimljeno je muško nedonošče u 15 satu života zbog izrazite anemije i žutice. Dijete je klinički i laboratorijski obrađeno te je utvrđena hemolitička anemija s retikulocitozom i eritroblastozom. U sklopu obrade zatraženo je određivanje aktivnosti G-6PDH kao mogućeg uzroka in vitro hemolize. G-6PDH u eritrocitima smo određivali spektrofotometrijskom metodom (Randox) u UV području nakon potpunog liziranja eritrocita. Princip se temelji na mjerenju redukcije NADP⁺ u NADPH na valnoj duljini od 340 nm. Rezultat se izražava kao aktivnost G-6PDH po eritrcitu. Uzorak za određivanje je EDTA venska krv, a mjerenje je izvršeno na instrumentu Exl Dimension (Siemens).

REZULTATI I ZAKLJUČAK

Već pri prvom mjerenju aktivnosti G-6PDH kod muškog nedonoščeta uočena je snižene vrijednosti u odnosu na referentni raspon koja bi mogla biti uzrok hemolitičke anemije u djeteta. Aktivnost je bila niža usprkos pojavi mlađih oblika eritrocita u perifernoj krvi koji imaju veću aktivnost enzima u odnosu na zrele eritrcitu. Mjerenjem aktivnosti G-6PDH tijekom 2 godine i starenjem djeteta izmjerene su izrazito snižene aktivnosti G-6PDH koje bi odgovarale aktivnosti na koje se javljaju u pacijenata koji su hemizigoti. Za potvrdu ovih pretpostavki potrebno je napraviti molekularnu analizu. Dodatni problem koji smo uočili je nedostatak adekvatnih referentnih intervala za nedonoščad i novorođenčadi populaciju kako bi se deficit G-6PDH mogao utvrditi što prije nakon rođenja djeteta s ovom enzim Opatijom.

KLJUČNE RIJEČI

G-6PDH, hemolitička anemija, retikulocitoza,eritroblastoza

MLADENKA HRKAĆ¹, Maja Rupčić¹¹ KBC Zagreb
ivahrkac7@gmail.com**UVOD**

Sarkoidoza je sustavna bolest koja ima genetsku osnovu, a najčešće je potaknuta čimbenikom okoliša. Mehanizam bolesti temelji se na prekomjernim imunološkim reakcijama između antigen-prezentirajućih stanica i T limfocita, a posljedica je stvaranje nekazeoznih upalnih granuloma sastavljenih od nakupina epitelioidnih makrofaga okruženih CD4+ T limfocitima.

CILJ

Određivanje dijagnostičke točnosti laboratorijskog parametara u postavljanju dijagnoze sarkoidoze. Usporedba vrijednosti laboratorijskih parametara (CD4/CD8, udio limfocita) između pacijenata sa postavljenom dijagnozom sarkoidoze i pacijenata kod kojih dijagnoza nije postavljena.

MATERIJALI I METODE

Opservacijska retrospektivna studija provedena je na pacijentima suspektim na sarkoidozu pluća i medijastinalnih limfnih čvorova. Postupci ustrojenog istraživanja dio su rutinske dijagnostičke obrade bolesnika koja uključuje određivanje omjera CD4 i CD8 limfocita T u BAL-u. Za parametre kontrolne skupine ispitanika koristile su se vrijednosti dobivene dijagnostičkom obradom bolesnika kod kojih je u konačnici isključeno postojanje sarkoidoze. Rezultati su statistički obrađeni korištenjem odgovarajućih statističkih metoda. Razlike u vrijednostima laboratorijskih parametara između bolesnika i kontrolnih pacijenata testirane su statističkim testovima za neovisne uzorke: Mann-Whitney testom i t-testom za nenormalno i normalno distribuirane podatke

REZULTATI I ZAKLJUČAK

U uzorcima bronhoalveolarnih lavata kod pacijenata s potvrđenom dijagnozom omjer CD4/CD8 imao je daleko veće vrijednosti, nego u uzorcima pacijenata kod kojih dijagnoza nije bila potvrđena. Također, udio limfocita kod pacijenata s potvrđenom dijagnozom također je bio veći nego kod pacijenata kod kojih dijagnoza nije potvrđena.

KLJUČNE RIJEČI

CD4/CD8, udio limfocita, sarkoidoza, dijagnostička vrijednost

ZNAČENJE ODREĐIVANJA KONCENTRACIJE PREALBUMINA U DIJALIZIRANIH BOLESNIKA

ŽELJKO LONČAR, Maja Štimac

KBC Rijeka, Rijeka, Hrvatska
zloncar.ri@gmail.com

UVOD

Bubrežna bolest sve je češća u Hrvatskoj i u svijetu. Uz metode liječenja razvijaju se i nove dijagnostičke metode pa se tako između ostalog i prealbumin zbog svojeg kratkog poluživota ($t/2=2-3$ dana) može koristiti kao biljeg malnutricije te se smatra ranijim pokazateljem pothranjenosti od albumina.

CILJ

Kod bolesnika s kroničnom bubrežnom bolesti malnutricija je često stanje i povezana je s lošijim ishodom liječenja. Cilj našeg rada bio je ispitati je li prealbumin dobar pokazatelj malnutricije; povezanost nutritivnih parametara BMI, albumina i prealbumina kod pothranjenih i normalno uhranjenih pacijenata. Ispitali smo postoji li statistički značajna razlika između ove dvije skupine bolesnika u koncentraciji ureje, kreatinina, CRP-a, feritina, kolesterola i triglicerida.

MATERIJALI I METODE

Rad je obuhvatio 115 bolesnika koji se zbog terminalnog zatajenja bubrega liječe u Zavoda za dijalizu, nefrologiju i transplantaciju, Kliničkog bolničkog centra Rijeka (KBC Rijeka). U ispitivanje je bilo uključeno 66 muškaraca (57%, 15-91 god.) i 49 žena (43%, 34-91 god.). Duljina trajanja hemodijalize bila je 51.7 ± 72.2 mjeseci. Uzorci krvi obrađeni su u Kliničkom zavodu za laboratorijsku dijagnostiku, KBC Rijeka, tijekom ožujka 2016. godine. Koncentracija biokemijskih parametara izmjerena je spektrofotometrijskim metodama i imunoturbidimetrijom. MedCalc 12.7.0.0. (MedCalc Software, Mariakerke, Belgium) i Microsoft excel 14.0.6129.5000 (Microsoft corporation, USA) su upotrijebljeni za statističku analizu podataka. $P < 0.05$ je prihvaćen kao statistički značajan.

REZULTATI I ZAKLJUČAK

Na temelju zadanog kriterija 14 bolesnika (12%) klasificirano je u skupinu pothranjenih (prealbumin 0.2 mg/L). Naši rezultati ukazuju da se koncentracija albumina i prealbumina statistički značajno razlikuje između ove dvije skupine ($P < 0.0001$; $P 0.4 \text{ mg/L}$). Parametri kod kojih je utvrđena statistički značajna razlika između dvije skupine su i kreatinin ($P = 0.0285$), ureja ($P < 0.0001$), kolesterol ($P = 0.0081$), trigliceridi ($P = 0.0123$) i CRP ($P < 0.0001$). U skupini normalno uhranjenih bolesnika koncentracija albumina i prealbumina je viša nego u skupini pothranjenih. Pothranjeni bolesnici imaju niže vrijednosti albumina, prealbumina, ureje, kreatinina, kolesterola i triglicerida, dok je CRP kao parametar upale bio viši u ovoj skupini. Snižene koncentracije prealbumina i albumina u skupini pothranjenih bolesnika u skladu su s literaturnim podatcima prema kojima je njihova snižena koncentracija biljeg pothranjenosti. Prealbumini i albumini spadaju u skupinu negativnih reaktanta akutne upale.

KLJUČNE RIJEČI

prealbumin, dijalizirani bolesnici

P32

PODREĐIVANJE FIBRINOGENA KOD BOLESNIKA OBOLJELIH OD TUMORA

Zoran Ivezic¹, NIKOLINA BABIĆ², Ana Kvesic²

¹ Opća bolnica „Dr. Josip Benčević“

² Dom zdravlja Đakovo

zivezic.bolnica@gmail.com

UVOD

Koagulacija krvi je proces u tijelu u kojem krv iz tekućeg stanja prelazi u gel stanje zahvaljujući pretvorbi topivog plazmatskog proteina fibrinogena u netopivi oblik fibrin. Fibrin tvori mrežicu oko koje se formira ugrušak. Pretvorba fibrinogena u fibrin je rezultat niza enzimskih procesa od kojih prva reakcija ima pojačavajući efekt na daljnji proces.

CILJ

Cilj studije je odrediti utjecaj fibrinogena kod bolesnika oboljelih od tumora i tumorskih bolesti. Kod upalnih procesa kao i kod karcinoma fibrinogen je u porastu. Cilj je odrediti fibrinogen kod bolesnika oboljelih od malignih bolesti i benignih tumora što će biti prikazano u rezultatima.

MATERIJALI I METODE

Metode određivanja fibrinogena: 1. Fibrinogen metoda modificirana po Schiltzu 2. Određivanje fibrinogena modificirano po Claussu 3. Modificirana Claussova metoda

REZULTATI I ZAKLJUČAK

Referentna vrijednost za fibrinogen je od 200 do 400mg/dl. Broj pacijenata kod kojih je određivan fibrinogen je 100. Kod benignih tumora u rasponu koncentracije od 201 do 300 mg/dl bilo je 16 pacijenata (32%). Od 301-400 mg/dl 18 pacijenata (36%), i u rasponu 501-600 mg/dl 10%. Kod malignih tumora rezultati pokazuju povišenu vrijednost fibrinogena. U rasponu koncentracije 401-500 mg/dl je 15 pacijenata, u rasponu 501-600 mg/dl 16, dok je u rasponu 601-700 mg/dl 14%. Dok je kod benignih tumora vrijednost fibrinogena u granicama normale 371 mg/dl, kod malignih je povišena. Ukupna srednja vrijednost je 594 mg/dl. U grupi bolesnika oboljelih od malignih tumora pronađena je značajno viša koncentracija fibrinogena koja se može tumačiti povećanim djelovanjem malignog tumora na hemostazu.

KLJUČNE RIJEČI

fibrinogen, benigni, maligni tumor

ULOGA GENOTIPIZACIJE DPYD U ONKOLOŠKIH PACIJENATA

MAJA MEZAK HERCEG, Zrinka Mirković, Lana Ganoci, Livija Šimičević

KBC Zagreb, Zagreb, Hrvatska
maja.mezak.herceg@kbc-zagreb.hr

UVOD

Fluoropirimidini (FP) su, kao dio kemoterapijskih protokola, najčešće primjenjivani u liječenju solidnih tumora. Metabolizam FP najviše ovisi o aktivnosti enzima dihidropirimidin dehidrogenaze (DPD).

CILJ

Brojne varijante gena koji kodira enzim DPD (DPYD) su povezane sa smanjenom aktivnosti DPD i kao posljedicu imaju toksični učinak FP. Otkrivanjem nositelja varijantnih alela moguće je spriječiti ozbiljne pa i smrtonosne nuspojave FP.

MATERIJALI I METODE

U Odjelu za farmakogenetiku i individualizaciju terapije (KZLD, KBC Zagreb) provodi se genotipizacija pet polimorfizama gena *DPYD* (*2A, *13, c.496A>G, c.1236G>A i c.2846A>T). Iz uzorka pune krvi (s EDTA) izdvaja se DNA koja se zatim genotipizira. Metoda je TaqMan® PCR u stvarnom vremenu koja se temelji na hibridizaciji DNA slijeda od interesa i oligonukleotidne probe označene fluorescentnom bojom koja omogućuje prijenos energije fluorescentnom rezonancijom. Provodi se na uređaju 7500 Real-Time PCR System (Applied Biosystems, SAD) i temelji se na kvantifikaciji fluorescencije, čiji signal raste s povećanjem broja kopija produkta. Fluorescentni signal se analizira pomoću računalnog programa 7500 Fast Software v.2.3. (Applied Biosystems, SAD). Prisutnost određenog fluorescentnog signala VIC® i/ili FAM® ukazuje na prisutnost odgovarajućih alela i očitava se prema zadanom za svaki polimorfizam.

REZULTATI I ZAKLJUČAK

Najvažniji polimorfizam *DPYD* povezan s toksičnošću FP je *DPYD**2A jer kodira nefunkcionalan DPD. Ostale varijante *DPYD* povezane sa smanjenom funkcijom ili potpuno bez funkcije enzima te toksičnosti FP su *13, c.496A>G, c.1236G>A i c.2846A>T. Smjernice The Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium preporučuju uporabu alternativnog lijeka za homozigotne nositelje nefunkcionalnih alela *DPYD* (*2A, *13, c.2846A>T) zbog neaktivnog DPD, dok za heterozigotne nositelje treba razmotriti smanjenje početne doze barem za 50 %, koju treba titrirati i povisiti ovisno o simptomima toksičnosti.

KLJUČNE RIJEČI

GENOTIPIZACIJA DPYD

P34

DOKAZIVANJE VIRUSNIH UZROČNIKA RESPIRATORNIH INFEKCIJA GORNJEG I DONJEG DIŠNOG SUSTAVA PCR METODOM U DJEČJOJ BOLNICI SREBRNJAK

NATALIJA MILEC, Darija Vrzić, Željka Tomas, Tea Duvančić, Vesna Kušec

Dječja bolnica Srebrnjak, Zagreb, Hrvatska
natalija.milec95@gmail.com

UVOD

Za potrebe dijagnostike pedijatrijske populacije u sklopu zdravstvene skrbi u DBS kao rutinska pretraga za dokazivanje virusnih uzročnika respiratornih infekcija gornjeg i donjeg dišnog sustava koristi se molekularna dijagnostika PCR-om.

CILJ

Cilj ovog rada prikazati je broj zahtjeva i usporediti rezultate ove pretrage za dva odabrana vremenska razdoblja, od 20. veljače do 19. ožujka te od 20. svibnja do 19. lipnja, za koje očekujemo razliku u broju pozitivnih rezultata kao i u uzročnicima respiratornih infekcija.

MATERIJALI I METODE

Uzorci za ovu dijagnostičku metodu obuhvaćaju bris nazofarinksa ili ždrijela, aspirat nazofarinksa, sputum i bronho-alveolarni lavat. Virusni patogeni izdvajaju se metodom automatizirane izolacije DNA/RNA na uređaju Samag (Sacace Biotechnology, Italija). Po izolaciji patogeni se umnažaju metodom PCR u stvarnom vremenu (eng. Real-Time PCR). PCR je vrlo osjetljiva metoda koja omogućava brzo umnožavanje specifičnog segmenta DNK ili RNK pri čemu je PCR u stvarnom vremenu tehnika koja omogućava istovremeno umnožavanje i detekciju pomoću fluorescentno obilježenih početnica (eng. primer). U DBS koristi se komplet kemikalija za višestruki PCR (eng. multiplex PCR kit) koji omogućava istovremenu detekciju 18 virusnih patogena: influenza A (M1), B (M1) te soj H1N1(2009) (hemaglutinin), respiratorni sincicijski virus tip A (N) i tip B (N), parainfluenza tip 1 (ha-neuraminidaza), tip 2 (ha-neuraminidaza), tip 3 (ha-neuraminidaza) te tip 4 (fuzijski gen), adenovirus (hekson), metapneumovirus (N), bocavirus (NS1), rinovirus (konzerv. regija 5'UTR), enterovirus (konzerv. regija 5'UTR), coronavirus soj 229E (nukleoprotein), soj NL63 (nukleoprotein), soj OC43 (nukleoprotein), soj HKU1 (nukleoprotein). Uređaj na kojem je provedena analiza je AriaMx Real-Time PCR system (proizvođača Agilent Technologies, SAD), a korišten je komplet kemikalija Viasure Real-Time PCR detection kit (proizvođača Certest BioTech, Španjolska). Kako bi se osigurala pouzdanost i kvaliteta rezultata u svakodnevnoj molekularnoj dijagnostici PCR-om koristi se pozitivna i negativna kontrola (CerTest Biotech, Španjolska) te jedanput godišnje vanjske kontrole kvalitete (QCMD Respiratory II EQA Programme, UK). Pretrage se rade svakim radnim danom, a nalazi izdaju unutar radnog vremena.

REZULTATI I ZAKLJUČAK

U prvom odabranom razdoblju (20. veljače - 19. ožujka) zaprimljen je i obrađen 41 uzorak, a u drugom (20. svibnja - 19. lipnja) 25 uzoraka. U prvom razdoblju pozitivna su bila 33 uzorka, a negativno 8 uzorka. Najčešći patogeni bili su metapneumovirus (20 pacijenata) i rinovirus (15 pacijenata). U drugom razdoblju pozitivno je bilo 18 uzoraka, a negativno 7 uzoraka. Najčešći patogeni bili su rinovirus (14 pacijenata) i parainfluenza tip 3 (5 pacijenata). Molekularna dijagnostika PCR-om je suvremena dijagnostička metoda koja omogućuje dobivanje brzih rezultata i olakšava odluku o odgovarajućem liječenju pacijenta.

KLJUČNE RIJEČI

pedijatrijska populacija, respiratorne infekcije, virusni patogeni, real-time PCR

POVEZANOST ABO SUSTAVA KRVNIH GRUPA S TEŽINOM KLINIČKE SLIKE I ISHODOM BOLESTI KOD INFEKCIJE SARS-COV-2

MIRNA GLEGJ¹, Nenad Nešković², Ivana Haršanji Drenjančević², Dario Sabadi³, Anđelka Bugarin⁴, Saška Marczi⁵, Marina Samardžija⁵, Mirjana Suver Stević⁵

¹ KBC Osijek, Klinički zavod za transfuzijsku medicinu

² KBC Osijek, Klinika za anesteziologiju i reanimatologiju, Medicinski fakultet Osijek, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

³ KBC Osijek, Klinika za infektologiju, Medicinski fakultet, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

⁴ KBC Osijek, Klinički zavod za transfuzijsku medicinu

⁵ KBC Osijek, Klinički zavod za transfuzijsku medicinu, Medicinski fakultet Osijek, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku
mirnaglegj@gmail.com

UVOD

Građa antigena ABO sustava krvnih grupa određena je oligosaharidnim komponentama na membrani eritrocita koje mogu djelovati kao receptori i/ili koreceptori za vezanje patogena. Pretpostavlja se kako razlika u građi izraženog antigena određuje bolju ili lošiju otpornost na određene bakterijske i virusne infekcije. Nositelji krvne grupe O nemaju izražene antigene krvnih grupa na površini eritrocita što se dovodi u vezu s relativnom otpornošću na neke infektivne bolesti. Prema dosadašnjim istraživanjima, osobe krvne grupe A imaju veći rizik za obolijevanje od određenih infektivnih bolesti zbog čega se javila pretpostavka kako bi ista mogla nositi veći rizik za težu kliničku sliku nakon infekcije SARS-CoV-2.

CILJ

Istražiti povezanost ABO sustava krvnih grupa s težinom kliničke slike i ishodom bolesti COVID-19.

MATERIJALI I METODE

Istraživanje je obuhvaćalo 1687 bolesnika koji su tijekom dvije pandemijske godine (2020.-2022.) bili hospitalizirani u KBC Osijek. Sukladno težini kliničke slike bolesnici su podijeljeni u dvije skupine. Prva skupina uključivala je hospitalizirane bolesnike sa srednje teškim oblikom COVID-19 dok su drugu skupinu činili bolesnici s teškim oblikom bolesti čije je liječenje zahtijevalo potporu mehaničke ventilacije. U istraživanje je uključeno i 7086 dobrovoljnih darivatelja krvi (DDK) koji su u istom razdoblju darivali krv, a za koje je utvrđeno da nisu bolovali od navedenih oblika COVID-19.

REZULTATI I ZAKLJUČAK

U odnosu na DDK, frekvencija krvne grupe O u ukupnom broju bolesnika bila je statistički značajno niža (31,6 vs 36,3%, $p < 0,001$). Kod istih ispitanika zastupljenost krvnih grupa A (41 vs 38,6%), B (18,9 vs 18,1%) i AB (8,5 vs 7,0%) bila je viša u odnosu na DDK, ali razlika nije činila statističku značajnost. Promatranjem komorbiditeta (dijabetes i hipertenzija) u obje skupine bolesnika, 18,4% bolesnika nije imalo navedene komorbiditete, a 27,2% pacijenta imalo je obje dijagnoze. Veliki postotak bolesnika (51,1%) imao je hipertenziju, dok je dijabetes imalo svega 2,9% pacijenata. Usporedbom parametara spola i krvnih grupa s frekvencijom komorbiditeta među promatranim skupinama nije uočena statistička značajnost. Primjenom univarijantne binomalne logističke regresije uočena je značajna povezanost težeg oblika bolesti sa smrtnim ishodom sa komorbiditetima, spolom i dobi kod pacijenata krvne grupe A. Nakon provedene multivarijantne regresijske analize pokazalo se da jedino dob ima značajnu povezanost sa smrtnim ishodom. Medijan dobi bolesnika sa smrtnim ishodom statistički je značajno veći ($p < 0,001$) u odnosu na oporavljene bolesnike (73 (65–79) vs 70,5 (61–79)). ZAKLJUČAK: Uočena je statistički značajna manja zastupljenost krvne grupe O u skupini oboljelih od COVID-19. Na smrtni ishod bolesti značajnu ulogu imala je jedino dob.

KLJUČNE RIJEČI

Ključne riječi: SARS-CoV-2, ABO krvne grupe, COVID-19, hipertenzija, dijabetes

P36

MOLEKULARNA DIJAGNOSTIKA PH NEGATIVNIH MIJELOPROLIFERATIVNIH NEOPLAZMI

Jadranka Jerković¹, ŽELJKA VUJIN¹, Marijana Jurak¹, Katja Puljčan¹

¹ KBC Zagreb, Zagreb, Hrvatska
kpuljcan@gmail.com

UVOD

Kronične mijeloproliferativne neoplazme (MPN) heterogena je skupina klonalnih bolesti pluripotentne matične stanice, a manifestiraju se nespecifičnom kliničkom slikom te eritrocitozom, leukocitozom i/ili trombocitozom u perifernoj krvi. Najčešća podjela ovih bolesti je na Ph negativne (Ph-) i Ph pozitivne MPN ovisno o prisustvu Ph kromosoma koji je posljedica translokacije između kromosoma 9 i 22, te posljedičnog spajanja gena u fuzijski prijepis BCR::ABL1. Uloga molekularnog laboratorija u dijagnostici ovih bolesti je nezaobilazna jer je diferencijano dijagnostički neophodno isključiti prisutnost Ph kromosoma (ili fuzijskog prijepisa BCR::ABL1), te potvrditi prisutnost mutacija koje karakteriziraju (Ph-)MPN (Policitemiju veru, esencijalnu trombocitemiju te idiopatsku mijelofibrozu).

CILJ

Utvrđiti učestalost zahtjeva za molekularnom obradom (Ph-)MPN te udio pozitivnih molekularnih biljega JAK2 V617F, mutacija u genu za kalretikulin te MPL mutacija kojom se potvrđuje dijagnoza bolesti.

MATERIJALI I METODE

U ispitivanje su uključeni svi bolesnici kojima je kroz 2022.godinu tražena molekularna dijagnostička obrada na fuzijski prijepis BCR::ABL1, JAK2 V617F, mutacija u genu za kalretikulin te MPL mutacija. U tu svrhu izolirane su nukleinske kiseline iz uzoraka periferne krvi (JAK2 V617F i kalretikulin) i koštane srži (fuzijski prijepis BCR::ABL1 i MPL) i analizirani molekularni biljezi prema standardnoj laboratorijskoj praksi.

REZULTATI I ZAKLJUČAK

U periodu od godinu dana upućeno je 1766 zahtjeva, od toga 307 za analizu fuzijskog prijepisa BCR::ABL1 od čega je pozitivnih bilo 30 bolesnika (10%) te se oni isključuju iz daljnje obrade za (Ph-)MPN. Upućeno je 1057 zahtjeva za JAK2 V617F od kojih je 127 bolesnika (12%) imalo dokazanu mutaciju. Obradu za mutaciju u genu za kalretikulin zatraženo je za 223 bolesnika, a dokazana je u 15 bolesnika (6%). Konačno, od 179 zahtjeva, samo su u 2 slučaja (1%) potvrđene MPL mutacije. Svukupno, (Ph-)MPN potvrđene su 144/1736 zahtjeva što čini 8,3% dok se prema literaturi udio mutacija ovisno o bolesti kreće od 50 do 95% osim u slučaju MPL mutacija čija je učestalost od 5-15%. Neproporcionalan broj zahtjeva i pozitivnih mutacija može se objasniti nespecifičnim kliničkim simptomima te dostupnosti uzorka periferne krvi za JAK2 V617F (60% od ukupnog broja zahtjeva), te korištenje iste za isključivanje (Ph-)MPN u nejasnim kliničkim slučajevima. Dijagnostika i diferencijalna dijagnostika (Ph-)MPN je složen algoritam koji obuhvaća četiri osnovne molekularne analize, pritom je najizraženiji probir na JAK2 V617F koji prema dobivenim rezultatima ne prikazuje racionalizaciju u odabiru pretaga. S obzirom na veliki broj pristiglih liječničkih zahtjeva, a mali broj pozitivnih molekularnih biljega koji bi opravdali kliničku sliku pacijenta, ne može se primijeniti statistički podatak o recipročnosti pretraga i pozitivnih nalaza.

KLJUČNE RIJEČI

BCR::ABL1, JAK2 V617F, MPN

TERMINALNI 6Q27 MIKRODELECIJSKI SINDROM U NEURORAZVOJNOM POREMEĆAJU: PRIKAZ SLUČAJA

ANA JURAS¹, Ivanka Mikulić¹, Marija Gavran¹, Sanda Huljev Frković¹, Kristina Crkvenac Gornik¹

¹ KBC Zagreb, Zagreb, Hrvatska
ajuras@kbc-zagreb.hr

UVOD

Mikrodelecije i mikroduplicacije uzrok su kliničkih poremećaja u otprilike 15 % pacijenata sa sumnjom na gensku ili kromosomsku aberaciju. Primjenom metode molekularne kariotipizacije, array CGH (engl. array comparative genomic hybridization) otkriveni su mnogi do sada nepoznati mikrodelecijski sindromi. Mikrodelecijski sindrom 6q27 je rijedak genetički poremećaj, a nastaje zbog delecije regije 6q27 u kojoj su smješteni geni važni za razvoj mozga.

CILJ

U ovom radu prikazujemo dječaka u dobi od 8 godina s heterotopijom sive tvari frontalno desno i okcipitalno lijevo, kombiniranim tipom ADHD i kompleksnim specifičnim neurorazvojnim poremećajem.

MATERIJALI I METODE

Genomska DNA iz periferne venske krvi izolirana je upotrebom komercijalnog seta prema protokolu proizvođača (FlexiGene DNA kit, Qiagen, Hilden, Germany). Array CGH analiza napravljena je korištenjem Agilent SurePrint G3 v2, 8x60 platforme prema uputama proizvođača (Agilent Technologies, Santa Clara, US).

REZULTATI I ZAKLJUČAK

Array CGH analizom uzorka DNA nađena je terminalna delecija dugog kraka kromosoma 6, u regiji 6q27(167339714_170571559), veličine 3,2 Mb. Deletirana regija obuhvaća 14 gena opisana u bazi OMIM od kojih su patogeni: DLL1, SMO2, TBHS2, ERMARD, PSMB1 i TBP. U bazi podataka DECIPHER (<https://decipher.sanger.ac.uk/>) slučajevi delecija približne veličine s djelomičnim preklapanjem regije okarakterizirani su kao patogeni. Kod pacijenata s mikrodelecijom 6q27 prisutna je varijabilna ekspresivnost i ne postoji jasna korelacija između veličine delecije i ozbiljnosti fenotipa. Terminalne mikrodelecije dugog kraka kromosoma 6 povezane su s fenotipom koji uključuje višestruke malformacije mozga, intelektualne poremećaje i epilepsiju. Najčešće abnormalnosti mozga su abnormalnosti corpus callosa, periventrikularna nodularna heterotopija (PNH), hidrocefalus, polimikrogirija i cerebelarne malformacije. Strukturne abnormalnosti mozga i kašnjenje u razvoju opisane su i kod bolesnika s manjim i većim delecijama. Prema literaturi najmanja regija preklapanja, koja je vjerojatno povezana s fenotipom moždanih malformacija i intelektualnih teškoća, veličine je 325 kb i sadrži gene DLL1, PSMB1, TBP i PDCD2, koji su deletirani kod našeg pacijenta. Gen TBP kodira faktor transkripcije koji je potencijalno povezan s kognitivnim razvojem. Pretpostavlja se da je delecija gena DLL1 odgovorna za nastanak malformacija mozga.

KLJUČNE RIJEČI

acgh, mikrodelecijski sindrom

P38

ANALYSIS OF EXPRESSION OF LNCRNA ANRIL AND PVT1 IN PERIPHERAL CIRCULATION OF PATIENTS WITH CALCIFYING AORTIC VALVE STENOSIS

JASENKA GRGURIĆ¹, Frane Paić²

¹ Laboratory for microbiology, Polyclinic for medical laboratory diagnostics, Synlab, Kraljevićeva 24, 10000, Zagreb

² Department of medical biology, Faculty of Medicine, University of Zagreb, Šalata 3, 10000 Zagreb
jasenka_grguric@yahoo.com

In this study, we aimed to analyze the expression of lncRNA ANRIL and PVT1 in the peripheral circulation (plasma) of patients with calcifying aortic valve stenosis (CAVS; n=45) [diagnosed at the Department of Cardiac and Transplant Surgery, Clinical Hospital Dubrava] and the equal number of healthy controls. Signed informed consent was obtained from all participants. The study was approved by the Ethics committee of Clinical Hospital Dubrava and the Medical Faculty, University of Zagreb. Blood was isolated from CAVS patients preoperatively before aortic valve replacement, and from control subjects after signed informed consent for participation in the study. After isolation, peripheral blood samples (vacutainers with sodium citrate) were centrifuged at 3000 g for 15 minutes, and the resulting plasma filtered through 0.2 µm syringe filters to obtain platelet-free plasma (PFP). The PFP samples were aliquoted into 1.5 mL Eppendorf tubes and stored at -80 °C. The quality and quantity of total RNA isolated from 500 µl of PFP samples by a combination of Trizol reagent (Invitrogen Life Technologies) and miRNAeasy kit (Qiagen) were determined using a NanoDrop spectrophotometer (Thermo Fisher Scientific). Reverse transcription was performed with High fidelity cDNA Reverse Transcription Kit (Thermo Fisher Scientific), and qPCR analysis with CFX96 qRT-PCR (Bio-Rad). All PCR reactions were performed in triplicate using TB Green™ Premix Ex Taq™ II (Tli RNase H Plus) PCR master mix (Takara Biotechnology Co., Ltd) and commercial gene primers. qPCR conditions were as follows: 1: 95 °C 30 s; 2: 95° C 5 s and 60° C 30 s, 40 cycles. Relative expression of the lncRNAs ANRIL and PVT1 was normalized vs. GAPDH reference gene and the expression data were analyzed using the 2- $\Delta\Delta$ CT method. The expression of lncRNA ANRIL and PVT1 was observed in both CAVS and control PFP samples but no statistically significant difference was observed.

INFEKCIJA VIRUSOM SARS COV-2 DJECE S AKUTNIM RESPIRATORNIM SIMPTOMIMA

ANICA DŽAJIĆ¹, Zoran Barušić²

¹ Dječja bolnica Srebrnjak, Zagreb, Hrvatska

² Klinika za infektivne bolesti „Dr. Fran Mihaljević“

dzajicanica@yahoo.com

UVOD

Infekcija virusom SARS-CoV-2 u djece uglavnom dovodi do blagih ili čak asimptomatskih infekcija, ali razlozi za to nisu u potpunosti razjašnjeni. Smatra se da u tome važnu ulogu imaju učinkovitije lokalne tkivne reakcije, bolja funkcija timusa i križno reaktivna imunost, osobito u djece starije od 4 godine.

CILJ

Učiniti retrospektivnu analizu laboratorijskih podataka o udjelu djece inficirane s virusom SARS-CoV-2 s akutnim respiratornim simptomima, koja su upućena u Dječju bolnicu Srebrnjak. Ispitati moguću razliku pozitivnih testova prema dobi djece.

MATERIJALI I METODE

Analizirani su rezultati testiranja djece na SARS-CoV-2 tijekom 2021 i 2022. godine. Djeca u dobi od 1 – 18 godina svrstana su u dvije skupine: Skupina 1. djeca koja su na obradu upućena 2021. godine (N = 1966); među njima je bilo 21 dijete u dobi ≤ 4 godine te 32 djece u dobi > 4 godina. Skupina 2. djeca koja su na obradu upućena 2022. godine (N = 992); među njima je bilo 39 dijete u dobi ≤ 4 godine te 39 djece u dobi > 4 godina. Uzorci (brisevi sluznice nazofarinska) uzeti su najlonskim štapićima za briseve te pohranjeni u sterilne epruvete s medijem za pohranu ili fiziološkom otopinom. Virusna RNA izolirana je pomoću automatiziranog sustava SaMag 12 i pripadajućih reagensa i potrošnog materijala za izolaciju virusnih nukleinskih kiselina (Sacace Biotechnologies, Italija). Infekcija virusom SARS CoV-2 dokazana je metodom PCR (lancana reakcija polimerazom; eng. Polymerase Chain Reaction) kojoj prethodi reverzna transkripcija RNA, korištenjem reagensa Viasure SARS-CoV-2 (VS-NCO-212LE, CerTest Biotec, S.L.Pol, Španjolska) specifičnih za ORF1ab i N gen virusa SARS-CoV-2 na uređaju Aria MX (Agilent Technologies, SAD). U analizi su primijenjene pozitivna i negativna kontrola PCR reakcije te je dodana vanjska ekstrakcijska kontrola (za pozitivnu i negativnu kontrolu PCR prije same reakcije, za uzorke pacijenata prije izolacije RNA). Statistička analiza učinjena je korištenjem hi2 testa (GraphPad software, USA).

REZULTATI I ZAKLJUČAK

Tijekom 2021. godine u bolnicu je upućeno dvostruko više djece nego 2022. godine. U Skupini 1. virus SARS CoV-2 dokazan je u 2,7 % djece (53/1966), a u Skupini 2 u 7,9 % djece (78/992). Razlika među dvjema ispitivanim skupinama bila je statistički značajna: Hi2 test = 37,47; $p < 0,00001$ (Tablica). Razlika prema dobi nije postojala: Hi2 test = 1,37; $p = 0,24$. Retrospektivna analiza laboratorijskih podataka u udjelu djece s COVID-19 prema dobi nije postojala. Postojao je statistički značajno veći udio inficirane djece tijekom 2022.

KLJUČNE RIJEČI

PCR, SARS CoV-2

P40

PREVALENCIJA SARS-CoV-2 VARIJANTI

ELEONORA LOZIĆ, Ivan Žuljević-Mikas

KBC Zagreb
ela.lozic@gmail.com

UVOD

Koronavirusi imaju sferni oblik, mogu mijenjati svoj izgled i prekriti se ovojnicom. Ime "koronavirus" potječe od izgleda virusa koji izgleda poput krune s batičastim izdancima koji strše iz ovojnice. Godine 2002. pojavio se SARS-CoV, virus koji izaziva teški akutni respiratorni sindrom (SARS). U prosincu 2019. godine, u gradu Wuhanu u Kini, primijećen je velik broj pneumonija nepoznate etiologije. Nakon izolacije virusa i sekvenciranja njegovog genoma, utvrđeno je da se radi o koronavirusu sličnom SARS-CoV. U veljači 2020. godine, Svjetska zdravstvena organizacija (WHO) nazvala je bolest uzrokovanu tim novim koronavirusom "Koronavirus bolest 2019" (COVID-19), dok je Međunarodni odbor za klasifikaciju virusa (ICTV) nazvao novi koronavirus SARS-CoV-2.

CILJ

Istražiti učestalost različitih varijanti virusa SARS-CoV-2 od svibnja 2022 do kraja prosinca 2022. godine. Usporediti učestalost varijanti virusa SARS-CoV-2 između pacijenata koji se liječe na COVID odjelu, pacijenata na drugim odjelima u bolnici, pacijenata koji su primljeni na hitni prijem i pacijenata koji su vanjski. Usporediti rezultate dobivene PCR testiranjem s rezultatima dobivenim sekvenciranjem genoma virusa SARS-CoV-2.

MATERIJALI I METODE

Za uzimanje brisa nazofarinksa korišten je tanki i savitljivi štapić s vrhom od sintetičkog materijala, poznat kao "flocked" obrisak, dok je za bris orofarinksa korišten deblji bris. Brisovi su pohranjeni u sterilnoj fiziološkoj otopini prije daljnje obrade. Uzorci su obrađeni i testirani pomoću molekularnih mikrobioloških metoda, posebno RT-PCR tehnike, kako bi se utvrdila prisutnost genoma virusa SARS-CoV-2 u uzorcima briseva nazofarinksa i orofarinksa. Virusna RNA iz uzoraka je izolirana na Genrui uređaju s korištenjem odgovarajućeg izolacijskog kompleta. Zatim su specifične regije genoma virusa umnožene pomoću RT-qPCR testa na Aria MX uređaju uz upotrebu reagensa za detekciju ANDiS FAST SARS-CoV-2-qPCR Detection Kit. Test se fokusira na tri sekvence gena: E gen, ORF1ab gen i N gen. Uzorci koji su pokazali pozitivne rezultate, s cp vrijednostima manjim od 30 za E gen, ORF1ab gen i N gen, poslani su na Hrvatski zavod za javno zdravstvo (HZJZ). HZJZ prikuplja takve uzorke iz cijele Republike Hrvatske i šalje ih na sekvenciranje u laboratorije koje je Europski centar za prevenciju i kontrolu bolesti (ECDC) ovlastio za tu svrhu.

REZULTATI I ZAKLJUČAK

Da bi se donijeli zaključci o povezanosti težine bolesti s određenom varijantom, potrebno je detaljnije analizirati anamneze pacijenata, kliničku sliku, prisutnost drugih bolesti i njihov cijepljeni status. RT-PCR testiranje je brz i dostupan način za identifikaciju varijanti SARS-CoV-2, ali za potvrdu konačnih rezultata pouzdanije je provesti sekvenciranje genoma virusa.

KLJUČNE RIJEČI

SARS-CoV-2, prevalencija, RT-PCR, sekvenciranje genoma

USPOREDBA UČESTALOSTI INFEKCIJE BAKTERIJAMA *CHLAMYDIA TRACHOMATIS* I *NEISSERIA GONORRHOEAE* IZ RAZLIČITIH BIOLOŠKIH UZORAKA KOD MUŠKARACA

VALENTINA ĐUREK¹

¹KBC Zagreb, Hrvatska
vale.durek@gmail.com

UVOD

Spolno prenosive bolesti – STD (engl. sexually transmitted diseases) su bolesti koje se prenose izravnim kontaktom tijekom spolnoga odnosa (vaginalnog, analnog ili oralnog). Predstavljaju važan javnozdravstveni i socioekonomski problem, a klamidija i gonoreja su među najčešće zabilježenim spolnim infekcijama kod muškaraca. *Chlamydia trachomatis* je najčešći spolno prenosivi uzročnik na globalnoj razini pri čemu se godišnje u svijetu bilježi oko 50 milijuna novozaraženih. *Neisseria gonorrhoeae* je gram negativna anerobna bakterija od koje godišnje oboli oko 25 milijuna ljudi u svijetu. Iz arhive Odjela za imunološku i molekularnu dijagnostiku Klinike za infektivne bolesti „Dr. Fran Mihaljević“ retrospektivno će se prikupiti rezultati analiza RT-PCR testova analiziranih na prisutnost DNA bakterija *Chlamydia trachomatis* i *Neisseria gonorrhoeae* iz bioloških uzoraka urina, brisa orofarinksa i brisa rektuma muškaraca koji su primali kliničku skrb u Ambulanti za spolno-prenosive bolesti kod muškaraca Zavoda za infekcije imunokompromitiranih bolesnika u razdoblju od 01.01.2022. do 31.12.2022.g.

CILJ

Glavni cilj ovog rada je utvrditi učestalost infekcije bakterijama *Chlamydia trachomatis* i *Neisseria gonorrhoeae* kod muškaraca te analizirati razlike u prevalenciji s obzirom na dob pacijenata i vrstu biološkog uzorka.

MATERIJALI I METODE

U istraživanju će se koristiti uzorci urina, brisa orofarinksa i brisa rektuma muškaraca koji su primali kliničku skrb u Ambulanti za spolno-prenosive bolesti kod muškaraca Zavoda za infekcije imunokompromitiranih bolesnika. Uzorci su prikupljeni tijekom kliničke skrbi pacijenata, a obrađeni su u Odjelu za imunološku i molekularnu dijagnostiku Klinike za infektivne bolesti „Dr. Fran Mihaljević“. Pretpostavljeni broj analizirani uzoraka uključenih u istraživanje je od 500 do 1000. Iz navedenih uzoraka urina, brisa orofarinksa i brisa rektuma izolirane su DNA *Chlamydia trachomatis* i *Neisseria gonorrhoeae* Abbott RealTime CT/NG dvojnim testom. Abbott RealTime CT/NG je test lančane reakcije polimerazom u stvarnom vremenu za izravnu i kvalitativnu detekciju plazmidne DNA *Chlamydia trachomatis* i genomske DNA *Neisseria gonorrhoeae*. Test ima visoku osjetljivost i specifičnost te omogućuje dvostruku detekciju bakterija, a analiza se odvija na Abbott M2000rt sustavu koji se sastoji od Abbott m2000sp i Abbott m2000rt. Na Abbott m2000sp se odvija ekstrakcija DNA, dok se real time PCR odvija na Abbott m2000rt djelu. Ciljne sekvence DNA *Chlamydia trachomatis* i DNA *Neisseria gonorrhoeae* se umonožavaju i prikazuju uz pomoć oligonukleotidnih sonda te su rezultati testa vidljivi na Abbott m2000rt. Rezultati se izdaju kao pozitivni na detekciju bakterije ili kao negativni.

REZULTATI I ZAKLJUČAK

Ovo istraživanje će po prvi puta odrediti usporednu učestalost infekcija bakterijama *Chlamydia trachomatis* i *Neisseria gonorrhoeae* u zaraženih muškaraca iz Republike Hrvatske.

KLJUČNE RIJEČI

DNA, *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, RT-PCR

P42

ODREĐIVANJE POLIMORFIZAMA *CYP P450* GENA U METABOLIZMU KANABIDIOLA

NINA KALAJŽIĆ¹, Ana Batinić², Sendi Kuret¹, Davorka Sutlović¹

¹ Sveučilište u Splitu, Sveučilišni odjel zdravstvenih studija, Split, Hrvatska

² Ljekarna Splitsko-dalmatinske županije, Split, Hrvatska

nkalajzic@ozs.unist.hr

UVOD

Dosadašnja istraživanja pokazala su da neopioidna komponenta kanabisa, kanabidiol (CBD), može liječiti različita klinička stanja; stoga se terapijske dobrobiti CBD-a u pojedinoj populaciji nastavljaju proučavati. Obzirom na nisku bioraspoloživost CBD-a važno je odrediti što sve utječe na koncentraciju CBD-a u organizmu. Bioraspoloživost CBD-a može ovisiti i o brzini metabolizma povezanog s genetskom varijabilnošću citokroma (CYP) P450. U literaturi se spominje utjecaj polimorfizama gena: CYP2C9*2, CYP2C9*3, CYP2C19*2, CYP2C19*3, CYP2C19*7 i CYP3A4.

CILJ

Glavni cilj bio je istražiti utjecaj polimorfizama CYP P450 gena na metabolizam CBD-a.

MATERIJALI I METODE

U istraživanje je uključeno 24 hipertenzivnih ispitanika (12 muškaraca i 12 žena) u dobi između 40 i 70 godina koji su uzimali pripravke CBD-a. Prilikom prvog posjeta istraživačkom timu od ispitanika je izuzet uzorak krvi. Za izolaciju DNA je korišten komercijalni komplet (High Pure PCR Template Preparation Kit, verzija 27, kat. br. 11796828001, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Njemačka). Ekstrahirana DNA je kvantificirana pomoću Qubit 4 fluorimetra (Thermo Fischer Scientific, Waltham, MA, SAD). Korištenjem TaqMan[®] SNP testa genotipizacije (Thermo Fischer Scientific, Waltham, MA, SAD) i sustava Applied Biosystems 7500 Realtime lančane reakcije polimeraze (RT-PCR) (Applied Biosystems, Foster City, CA, SAD), genotipizirani su: CYP2C9*2, CYP2C9*3, CYP2C19*2, CYP2C19*3, CYP2C19*7 i CYP3A4. Istraživanje je odobrilo etičko povjerenstvo Medicinskog fakulteta u Splitu 25. siječnja 2021. KLASA: 003-08/21-03/0003; UR. BROJ: 2181-198-03-04-21-0001.

REZULTATI I ZAKLJUČAK

Prema fenotipu enzima CYP2C9*2*3 bilo je 13 (54%) ispitanika s normalnim metabolizmom (genotip *1/*1), 8 (33%) s intermedijarnim metabolizmom (genotip *1/ *2 ili *1*3) i 3 ispitanika (13%) s lošim metabolizmom (genotip *2/*2, *2/*3 ili *3/*3). Prema fenotipu enzima CYP2C19*2*17 bilo je 11 (46%) ispitanika s normalnim metabolizmom (genotip *1/*1), 5 (21%) s intermedijarnim metabolizmom (genotip *1/ *2 ili *2/*17), 7 ispitanika (29%) s brzim metabolizmom (RM) (genotip *1/*17) i 1 ispitanik (4%) s ultrabrzim metabolizmom (UR) (*17/*17). Kod enzima CYP2C9*2*3, ispitanici s fenotipom lošeg metabolizatora imali su veće koncentracije CBD-a u plazmi. CYP2C19*2 i CYP2C19*17 bili su negativno povezani s razinama CBD-a u mokraći. Potrebna su daljnja istraživanja kako bi se utvrdio utjecaj enzima CYP P450 na metabolizam CBD-a.

KLJUČNE RIJEČI

kanabidiol, CYP P450 gen, SNP genotipizacija

PRIMJENA MALDI-TOF MS U IDENTIFIKACIJI KVASACA RODA CANDIDA

**NENO PETRIĆ¹, Manda Markanović¹, Danijela Strnad¹, Lidija Đurić¹, Kristina Rogalo¹,
Amalija Lukić¹, Sanja Pleško^{1,2}, Ana Budimir^{1,2}**

¹ Klinički bolnički centar Zagreb, Zagreb, Hrvatska

² Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

petric.neno@gmail.com

UVOD

Kvasci roda *Candida* su važni uzročnici infekcija u ljudi povezani s visokim morbiditetom i mortalitetom, a brza i precizna identifikacija do razine vrste ključna je za pravilno liječenje zbog urođene rezistencije nekih vrsta na antifungike. U ovom istraživanju istražujemo upotrebu MALDI-TOF spektrometrije za identifikaciju *Candida*, inovativnu metodu temeljenu na masenoj spektrometriji.

CILJ

Cilj istraživanja bio je pokazati naše iskustvo brzog i preciznog identificiranja *Candida* s tehnologijom masene spektrometrije

MATERIJALI I METODE

MALDI TOF (engl. Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight) je metoda koja se koristi za identifikaciju mikroorganizama izoliranih u kliničkom mikrobiološkom laboratoriju, analizirajući spektar proteina pomoću masene spektrometrije. Maseni spektar uzoraka uspoređuje se s referentnim uzorcima koji se nalaze u bazi podataka. MALDI-TOF MS metoda se može uspješno primjenjivati za identifikaciju mikroorganizama (bakterije, gljive i netuberkulozne mikobakterije) u rutinskom radu laboratorija. Stanična stijenka *Candida* je složena struktura koja se sastoji od nekoliko slojeva, te se uz Matrix koristi i 70% mravlja kiselina. Za identifikaciju mikroorganizama do sada su se koristile metode koje zahtijevaju dužu inkubaciju te otežavaju i produljuju vrijeme potrebno za postavljanje dijagnoze i adekvatno liječenje bolesnika. MALDI-TOF MS je brza i jednostavna metoda kojom se skraćuje vrijeme od prijema uzoraka do identifikacije mikroorganizama. Analize koje se zasnivaju na spektrometriji masa visoko su selektivne i osjetljive, te je zbog velike osjetljivosti moguće analizirati male količine proteina, što omogućava analizu izrazito malih volumena uzorka. Uvođenje MALDI-TOF MS metoda u rutinskoj praksi za identifikaciju pridonosi uspješnosti cjelokupnog dijagnostičkog postupka. MALDI-TOF se može uspješno primjenjivati za identifikaciju mikroorganizama u rutinskom radu laboratorija kao točna, brza, jeftina i jednostavna metoda. Primjenom MALDI-TOF spektrometrije uspješno smo identificirali različite vrste *Candida* prisutne u 200000 kliničkih uzoraka u razdoblju od dvije godine.

REZULTATI I ZAKLJUČAK

Iz ukupno obrađenih 200000 uzoraka u razdoblju od 2 godine izolirali smo 12% *Candida albicans* (24000), 3,5% *Candida glabrata* (7000) i 2% *Candida parapsilosis* (4500). Identifikacija je provedena brzo i precizno, omogućavajući pravovremeno i ciljano liječenje. MALDI-TOF spektrometrija predstavlja moćan alat za identifikaciju *Candida*. Njena brzina, preciznost i jednostavnost korištenja čine je vrlo korisnom metodom u kliničkoj dijagnostici. Ovaj rad pruža daljnje dokaze o pouzdanosti MALDI-TOF spektrometrije kao metode za identifikaciju *Candida* u svrhu poboljšanja ishoda bolesnika.

KLJUČNE RIJEČI

MALDI-TOF, *Candida*, masena spektrometrija, matrix, identifikacija

P44

CLINICAL IMPACT OF MALDI-TOF MASS SPECTROMETRY IDENTIFICATION OF *NONTUBERCULOUS MYCOBACTERIA*

MANDA MARKANOVIĆ¹, Mateja Janković Makek¹, Goran Glodić¹, Tomislav Kuliš¹, Ivana Mareković¹

¹ KBC Zagreb, Zagreb, Hrvatska
manda.markanovic470@gmail.com

UVOD

Nontuberculous mycobacteria (NTM) are ubiquitous opportunistic pathogens causing infections in immunocompromised patients. Current clinical guidelines recommend the identification of all NTM isolates from respiratory samples to at least the species level using validated molecular or matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) techniques. This is important because choice of antimicrobial treatment differs depending on NTM species isolated. Clinical impact of MALDI-TOF MS identification method on patient management is still unknown and data are scarce

CILJ

The aim of this study was to evaluate the clinical impact of MALDI-TOF MS NTM identification using Biotyper Mycobacteria Library v6.0 (Bruker Daltonics GmbH, Bremen, Germany), currently used in routine laboratory work.

MATERIJALI I METODE

Between January 2014 and November 2021, 101 NTM isolates were collected at University Hospital Center Zagreb. The isolates were cultivated on a solid medium and were identified using the reference molecular method of PCR-reverse hybridization (Hain Lifescience GmbH, Nehren, Germany) and MALDI Biotyper Microflex LT/SH after protein extraction.

REZULTATI I ZAKLJUČAK

MALDI-TOF MS accurately identified 95 (94.06%) NTM isolates at the species level. Most of the accurately identified isolates (92/95; 96.84%) showed a 'high confidence identification' score of ≥ 1.80 , while only 3.16% (3/95) showed a score of < 1.80 . In the case of six (6/101; 5.94%) NTM isolates, the identification results obtained by MALDI-TOF MS and those obtained by PCR-reverse hybridization were discrepant. Of the six discrepant results, only one that was identified by PCR-reverse hybridization as *Mycobacterium scrofulaceum* and by MALDI-TOF MS as *Mycobacterium parascrofulaceum* met the ATS/IDSA/ERS/ESCMID diagnostic criteria for NTM pulmonary disease. However, a species was identified by PCR-reverse hybridization as *Mycobacterium malmoense* in 2016 at the time of first isolation when patient was hospitalized and as *Mycobacterium scrofulaceum* when we re-interpreted visible bands, which corresponds to changes in the PCR-reverse hybridization test version used and different manufacturer's instructions for interpretation. None of this changes in identification would have cause the choice of different antimicrobial treatment. Identification of NTM by MALDI Biotyper Mycobacteria Library v6.0 has shown high reliability. In literature only a few cases caused by *M. parascrofulaceum* are documented thus far. Although MALDI-TOF MS NTM identification with Mycobacteria Library v6.0 would not have an additional impact on the choice of antimicrobials, its future integration in routine diagnostics could help clarify the epidemiology, clinical characteristics, and a course of infections caused by less common NTM species.

KLJUČNE RIJEČI

MALDI-TOF mass spectrometry, PCR-reverse hybridization, non-tuberculous mycobacteria

P45

RESPIRATORY SYNCYTIAL VIRUS DETECTION DURING THE COVID-19 PANDEMIC 2020-2022: EXPERIENCE OF CROATIAN INSTITUTE OF PUBLIC HEALTH

BOJANA BOCKA¹, Ana Martinović¹, Ivana Ferenčak¹, Tian Košar¹, Dominik Ljubas¹, Ema Imbrija¹, Irena Tabain¹

¹ Hrvatski zavod za javno zdravstvo
bojana.bocka@hzjz.hr

UVOD

One of the main viruses responsible for respiratory tract infections in people of all ages worldwide is the respiratory syncytial virus (RSV). RSV infection exhibits a seasonal pattern in a temperate region, occurring from winter through early spring. RSV testing is valuable for determining and monitoring the start and end of the RSV season, which is essential for infection prevention planning.

CILJ

We evaluated the trends of RSV detection in children during the COVID-19 pandemic (2020–2022).

MATERIJALI I METODE

The observational study included respiratory samples collected from children up to the age of 10 in the Zagreb area. All samples were tested at the Virology Department, Croatian Institute of Public Health, Croatia. The RSV was identified using the direct immunofluorescence test (DFA) method with commercial monoclonal antibodies (Light Diagnostics RSV DFA, Millipore, USA) during 2020-2021. In January 2022 multiplex molecular testing (Respiratory Viruses 16-well panel, AUS Diagnostics, Australia) has been implemented for RSV detection in respiratory samples.

REZULTATI I ZAKLJUČAK

Among 7038 patients tested, the proportion of RSV-positive cases was 16.52% (1133/7038). However, during 2020 and 2021, the proportion of RSV-positive cases was higher (47.60% and 33.00%, respectively) in comparison to 2022 when the proportion of RSV infection was 13.3% (702/5303; 13.3%). The most affected group was infants, and an increase in median age was noted. Conclusion: In the initial phase of the pandemic, the focus on conducting narrower testing, primarily for SARS-CoV-2, could have influenced the volume of testing for RSV and the proportion of positive RSV cases. Nevertheless, the implementation of high-throughput techniques such as multiplex PCR testing, along with the relaxation of pandemic restrictions, had a notable effect on the number of RSV tests conducted. The increased volume of RSV testing resulted in a decline in the rate of positive RSV cases.

KLJUČNE RIJEČI

respiratory syncytial virus, molecular diagnostics, respiratory infections

P46

IN VITRO ACTIVITY OF ERAVACYCLINE ON CARBAPENEM-RESISTANT ENTEROBACTERIALES

IVANA JURIC¹, Zrinka Bošnjak¹, Mario Ćorić, Joško Lešin¹, Ivana Mareković¹

¹ University Hospital Center Zagreb
ijuric4@kbc-zagreb.hr

UVOD

Treatment options for carbapenem-resistant Enterobacterales (CRE) infections are limited, so novel antimicrobial agents other than beta-lactams with activity not being dependent on the beta-lactamase class are especially important. In CRE, three major classes of carbapenemases are Ambler Class A KPC, Class B metallo- β -lactamases such as VIM, NDM, and IMP; and Class D OXA-type enzymes such as OXA-48-like carbapenemases. New therapies have been sought to be approved for the treatment of severe infections in adults, but eravacycline (ERV) is the first fully synthetic fluorocycline indicated for the treatment of complicated intra-abdominal infections in adults.

CILJ

This study aimed to determine the susceptibilities of 80 CRE clinical isolates, from different patient specimens to ERV and its in vitro efficacy concerning the type of carbapenemase.

MATERIJALI I METODE

After the identification of bacterial strains by MALDI-TOF mass spectrometry, the antimicrobial susceptibility was examined by disc diffusion and microdilution for minimal inhibitory concentration (MIC) determination. The presence of carbapenemases was initially detected by immunochromatographic assay performed on colonies identifying the production of KPC, IMP, NDM, VIM, and OXA-48-like enzymes. Genes of interest were confirmed and detected by polymerase chain reaction (PCR) and agarose gel electrophoresis.

REZULTATI I ZAKLJUČAK

A total of 54 (54/80; 67.5 %) isolates were susceptible to ERV with MIC₅₀ of ≤ 0.5 $\mu\text{g/mL}$ and MIC₉₀ of 4 $\mu\text{g/mL}$. Out of a total of five tested bacterial species, *Escherichia coli* strains show the highest sensitivity to eravacycline (87.5 %), followed by *Enterobacter cloacae* (83.3 %), *Klebsiella pneumoniae* (65.1 %), *Citrobacter freundii* (58.3 %), and *Klebsiella oxytoca* (40 %) while *K. oxytoca* showed the highest resistance of 60 %. Regarding the type of carbapenemase, the OXA-48 strains showed the highest susceptibility to ERV with a total of 71.4 % of susceptible strains, followed by VIM with 65.4 % and NDM with a total of 61.1 % susceptible strains. The susceptibility of OXA-48-producing isolates was not significantly higher in comparison with NDM - ($P=0.539$) and VIM-producing isolates ($P=0.7805$). Due to a different mechanism of action in comparison to carbapenems, ERV is a possible alternative to novel beta-lactamase inhibitor combinations for the treatment of CRE infections. Study results have shown in vitro efficacy of ERV on CRE, but successful therapy with ERV for CRE infections should be based on susceptibility testing with phenotypic methods, molecular determination of the type of carbapenemase, the severity of the infection, and clinical characteristics of each patient.

KLJUČNE RIJEČI

eravacycline, carbapenem-resistant Enterobacterales (CRE), beta-lactamases, carbapenemases, infections

**MIRELA JANJIĆ¹, Ana Peris¹, Ana Bosak¹, Gordana Jelić¹, Nora Pacenti¹, Davorka Burić¹,
Andrea Paravić Radičević¹, Anja Ognjenović¹, Sonja Vidović Iviš¹, Vuk Milutinović¹, Božana Maleta¹**

¹ Selvita d.o.o.

mirela.janjic@selvita.com

INTRODUCTION

Translational pathology in the preclinical and clinical pharma-discovery process plays an important role in bridging gaps between *in vitro*, *in vivo*, and clinical research. Various methods of target and pathway validation in cell lines grown *in vitro*, among others immunohistochemistry and *in situ* hybridization, are used in order to support the development of reliable disease-related *in vitro* assays.

GOAL

The aim of this study was to develop a paraffin-embedding method of formalin-fixed cell-monolayer grown on a membrane in 24 well plates and evaluate the preservation of morphological characteristics, as well as protein/mRNA content.

METHODS

T84 and Caco-2 cells are human intestinal cell lines derived from a colorectal adenocarcinoma; the T84 cell line originates from lung metastasis, whereas the Caco-2 cell line is derived from the primary tumor site. Cells (1x10⁵) seeded onto Transwell polyethylene terephthalate (PET) membrane cell culture inserts were differentiated for 2 weeks; at 37 °C, 5% CO₂, 95% humidity, and medium change three times per week. Cells on membranes were formalin-fixed for 1 hour. Membranes were cut in half, and placed between two lens papers into histology cassette to protect them from moving and breaking during tissue processing in tissue processor. Membranes were paraffin-embedded by placing both halves vertically into the mold filled with warm paraffin (60°C). Human tissue was formalin fixed for 24 hours and paraffin embedded. All samples were cut at 1µm. Immunohistochemistry was performed using a primary antibody against the drug target followed by polymer-based systems, containing an integrated polymer of active enzyme and a secondary antibody that binds to a primary antibody target and DAB chromogen for visualization. *In situ* hybridization was performed using PPIB-probe and ready-to-use chemicals. mRNA content was evaluated using RNAscope method. Slides were scanned using slide scanner.

RESULTS AND CONCLUSION

In this study it is presented that histopathological methods (immunohistochemistry and *in situ* hybridization) could be applied in translational research due to comparable signal quality within the human tissue and cell line grown on membrane. Cell morphology and apical/basal cell orientation on the membrane remained preserved (adequate). The protein content (IHC) and integrity of mRNA were well preserved in FFPE samples. Results from target translation between human cells grown on the membrane and human samples taken during surgery are comparable.

KEY WORDS

Immunohistochemistry, *in situ* hybridization, translational research, cell line, FFPE

P48

DVOSTRUKO IMUNOHISTOKEMIJSKO BOJANJE p63/ AMACR u PATOHISTOLOŠKOJ OBRADI TKIVA PROSTATE UZETOG IGLenom BIOPSIJOM

**MARTINA ABRAMOVIĆ¹, Anita Breški¹, Ivana Ščrbak¹, Ljiljana Ratkajec¹, Lucija Leovac¹,
Sara Hrg¹, Stela Bulimbašić¹**

¹ KBC Zagreb, Zagreb, Hrvatska
abramovic.martina@yahoo.com

UVOD

Prema podacima Registra za rak republike Hrvatske karcinom prostate nalazi se na prvom mjestu po incidenciji karcinoma kod muškaraca, ispred karcinoma pluća. Sve češće se otkriva u asimptomatskoj fazi određivanjem PSA i posljedično biopsijom iglom. Tkivo prostate se uzima iglenom biopsijom pod kontrolom ultrazvuka. S obzirom da je igla promjera 18 gaugea u većini se slučajeva za patohistološku analizu dobiva malo materijala na temelju kojeg treba postaviti ispravnu dijagnozu. Često se u cilindrima dobivenim iglenom biopsijom vidi samo jedno žarište što otežava dijagnostiku. S obzirom da patohistološka dijagnostika uključuje osim standardnog hemolaun eozin bojanja još nekoliko dodatnih bojanja što zahtjeva višestruki rezanje parafinskih blokova s oskudnim materijalom. Dvostruko imunohistokemijsko bojanje smanjuje mogućnost gubitka materijala uslijed rezanja materijala jer se na jednom staklu bojanju dva markera.

CILJ

S obzirom da se iglenom biopsijom dobije mala količina tkiva što može utjecati na rezultat naš cilj je bio smanjiti broj potrebnih stakala za bojanje a samim time smanjiti mogućnost gubitka materijala uslijed rezanja.

MATERIJALI I METODE

U prvoj polovici 2023. godine na Zavodu za patologiju i citologiju KBC Zagreb zaprimljeno je 299 iglenih biopsija prostate. Nakon patohistološke i imunohistokemijske obrade, u 93 uzoraka je izgubljena ekspresija p63 i pozitivno bojanje na AMACR, što odgovara nalazu adenokarcinoma prostate.

REZULTATI I ZAKLJUČAK

Dvostruko imunohistokemijsko bojanje s jednim pozitivnim markerom (AMACR) i drugim negativnim (p63) smanjuje mogućnost gubitka materijala uslijed rezanja materijala koji uglavnom nije količinski obilan. Također, poboljšava dijagnostičku učinkovitost, osjetljivost i specifičnost što smanjuje rizik od lažno negativnih rezultata te smanjuje potrebu za dodatnim biopsijama.

KLJUČNE RIJEČI

karcinom prostate, iglena biopsija, dvostruko imunohistokemijsko bojanje, p63, AMACR

PRIKAZ SLUČAJA: FOLIKULARNI KARCINOM ŠTITNJAČE S METASTAZAMA

IVANA LAZAR¹, Ivanka Vidić Paulišić²

¹ Opća bolnica Varaždin

² Županijska bolnica Čakovec

ivanalazar5@gmail.com

UVOD

Folikularni karcinom štitnjače drugi je po učestalosti te čini 10 % – 15 % svih karcinoma štitnjače. Veća pojavnost uočena je kod osoba ženskog spola starosne dobi između 50 i 60 godina. Kod većine pacijenata karcinom je utvrđen pojavom palpabilnog čvora ili je slučajno otkriven ultrazvučnim pregledom kod asimptomatskih pacijenata. Folikularni karcinom štitnjače histološki je podijeljen u tri podtipa, a ovisno o podtipu, moguće je metastaziranje, najčešće u kosti i pluća te limfne čvorove.

CILJ

Cilj rada je ukazati na važnost citološke dijagnostike kroz prikaz kliničkog tijeka bolesti pacijentice s folikularnim karcinomom štitnjače s metastazama u limfnim čvorovima vrata i kostima.

MATERIJALI I METODE

Šezdesetogodišnja pacijentica, prethodno bez težih oboljenja, pozitivne obiteljske anamneze (brat je bolovao od karcinoma bubrega i štitnjače), zaprimljena je u hitnoj službi zbog dizurije, febriliteta i bolova u lijevoj lumbalnoj loži te je smještena na odjel infektologije zbog utvrđenog ljevostranog pijelonefritisa. Kod pacijentice je radiološki opisano dobro ograničeno denzno zasjenjenje uz torakalnu stijenku donjeg plućnog polja lijevo, a ultrazvučnim pregledom abdomena postavljena je sumnja na apsces lijevog bubrega, potvrđen MSCT-om. MSCT-om toraksa opisana je ekspanzivna litična solidna lezija osmog rebra lijevo te rubno kalcificirana lezija u desnom režnju štitnjače. Dodatno je učinjen UZV štitnjače te je preporučena punkcija. Citološkom punkcijom pod kontrolom ultrazvuka dobiven je materijal čvorova lijevog i desnog režnja štitnjače, limfnih čvorova vrata (regija IV) te uzorak torakalne stijenke. Uzorci su obrađeni standardnim citološkim bojenjem – May-Grünwald-Giemsma, učinjena je imunocitokemija uzorka torakalne stijenke – TTF 1, CK 7, CK 20 i CD56 te su uzorci analizirani svjetlosnim mikroskopom.

REZULTATI I ZAKLJUČAK

U razmazima punktata čvora u lijevom režnju štitnjače nađena je krv i nešto tireocita dok su u razmazima čvora desnog režnja nađeni brojni atipični tireociti u rahlim nakupinama koji mjestimice formiraju folikule i trabekule, u pozadini krv i vrlo malo koloida. Stanice iste morfologije kao u desnom režnju štitnjače nađene su i u razmazima punktata limfnih čvorova vrata te torakalnoj stijenci čime je utvrđeno da se radi o folikularnom karcinomu štitnjače s metastazama u limfnim čvorovima vrata i torakalnoj stijenci. Imunocitokemijski su stanice u torakalnoj stijenci bile slabo pozitivne na TTF 1 i CK 7 te negativne na CK 20 i CD 56. PHD nalazom potvrđena je citološka dijagnoza te je pacijentica kasnije podvrgnuta radioterapiji. S obzirom na to da se u ovom slučaju radilo o metastatskoj bolesti, citološka se dijagnostika pokazala dobrom smjernicom te je omogućila lakše postavljanje konačne dijagnoze folikularnog karcinoma štitnjače kod pacijentice.

KLJUČNE RIJEČI

folikularni karcinom štitnjače, imunocitokemija, citologija

P50

HISTOKEMIJSKE I IMUNOHISTOKEMIJSKE METODE U DIJAGNOSTICI KARCINOMA PROSTATE

MAJA HORVAT¹, Božo Krušlin¹, Monika Ulamec¹, Zvonka Bogović¹

¹ KBC Sestre Milosrdnice
maja.horvat@live.com

UVOD

Karcinom prostate najčešći je karcinom kod muškaraca. Potvrda dijagnoze ovisi o patohistološkoj verifikaciji tumora u iglenoj biopsiji. Najčešće se dijagnoza postavlja hematoksilin-eozin rezovima, no u pojedinim slučajevima, dijagnozu je teško postaviti bez dodatnih analiza.

CILJ

Za patohistološku dijagnozu karcinoma prostate bitan je izgled citoplazme i jezgre stanica karcinoma, a postavlja se na temelju promjene strukture žljezdanog tkiva i diferenciranosti. Histokemijska metoda APAS se koristi u svrhu dokazivanja mucinoznog sadržaja u tumorskim žlijezdama. P63 imunoreaktivnost postiže se u jezgri stanica, a eksprimira se u mioepitelnim ili bazalnim stanicama.

MATERIJALI I METODE

Histokemijska metoda APAS, imunohistokemijska metoda p63.

REZULTATI I ZAKLJUČAK

Histokemijska metoda APAS je široko dostupna metoda, dok je imunohistokemijske metode moguće koristiti u većim laboratorijima. Najčešće se koristi IHC bojanje p63 koji prikazuje bazalne stanice, te je negativan u karcinomu prostate. Kombinacija dvije navedene metode daje najbolje rezultate u konačnoj dijagnozi.

KLJUČNE RIJEČI

Prostata, APAS, p63, histokemija, imunohistokemija

PRIPREMA UZORKA BIOPTATA MIŠIĆA ZA PATOHIŠTOLOŠKU OBRADU: OD HISTOKEMIJE I IMUNOHISTOKEMIJE DO ELEKTRONSKE MIKROSKOPIJE

**PETRA POSAVEC¹, Danijela Pavlović¹, Ozrenka Poljak¹, Danijela Marić¹, Andreja Tarle¹,
Katarina Ražnjević¹, Antonia Jakovčević¹**

¹ KBC Zagreb, Zagreb, Hrvatska
petra.posavec1997@gmail.com

UVOD

Biopsija skeletnog mišića predstavlja važnu ulogu u dijagnostici neuromuskularnih bolesti. Indikaciju za biopsiju mišića postavlja liječnik neurolog na temelju simptoma kao što su mišićna slabost, različite miopatske promjene u elektrofiziologiji mišića te povišena koncentracija kreatin kinaze (CK) u serumu. Patohistološka analiza bioptiranog mišića svjetlosnom i elektronskom mikroskopijom te dodatnom imunohistokemijskom obradom značajna je za postavljanje dijagnoze primarne bolesti mišića te razlikovanje prema stečenim sekundarnim upalnim ili toksičnim miopatijama. Histokemijskim tehnikama prikazuje se općenita struktura mišićnog tkiva ili moguće promjene, nedostatak određenih enzima, različita biokemijska svojstva specifičnih vlakana i njihov raspored te višak pojedinih supstrata. Imunohistokemijske tehnike s istovremenim korištenjem različitih primarnih protutijela otkrivaju manjak pojedinih proteina uključenih u patologiju mišićne distrofije.

CILJ

Predstaviti patohistološku obradu bioptata mišića u patohistološkom laboratoriju Kliničkog zavoda za patologiju KBC-a Zagreb s detaljnijim osvrtom na pripremu dijela uzorka za elektronsku mikroskopiju.

MATERIJALI I METODE

Prikaz postupka patohistološke obrade mišića od primitka u laboratorij do gotovih histokemijskih i imunohistokemijskih preparata te preparata namjenjenih za elektronsku mikroskopiju. U laboratorij Kliničkog zavoda za patologiju KBC-a Zagreb, u protekloj 2022. godini zaprimljeno je 31 uzoraka biopsije mišića, od kojih je 13 obrađeno i analizirano u laboratoriju za elektronsku mikroskopiju nakon histokemijske i imunohistokemijske analize gdje je utvrđeno da se radi o sumnji na neku metaboličku bolest, npr. glikonomopatiju te je u takvim slučajevima bila potrebna i elektronska mikroskopija.

REZULTATI I ZAKLJUČAK

Sam postupak otvorene biopsije mišića za pacijenta je jako neugodan i agresivan dijagnostički postupak te je potrebna čvrsta indikacija za takav postupak pri čemu je jako bitno da uzorak bude adekvatan za analizu. Ipak ovakva vrsta biopsije često bude neophodna jer se dijagnoza određenih neuromuskularnih bolesti ne može postaviti bez patohistološke obrade mišićnog bioptata. Elektronska mikroskopija nije uvijek potrebna i budući da se radi o jako skupom i vremenski zahtjevnom procesu radi se samo onda kada histokemijske i imunohistokemijske analize te uputna dijagnoza upućuju na postojanje neke metaboličke bolesti.

KLJUČNE RIJEČI

mišić, bioptat, histokemija, imunohistokemija, elektronska mikroskopija

P52

RAZLIKE U CITOMORFOLOGIJI *PNEUMOCYSTIS JIROVECI* U UZORKU BRONHOALVEOLARNOG LAVATA OVISNO O VRSTI BOJENJA

MARIJANA VRANJKOVIĆ¹, Lucija Milutin¹, Ana-Marija Krupec¹, Snježana Šušković-Medved¹, Suzana Harabajsa¹, Vesna Šimić¹, Božica Vrabec Branica¹, Silvana Smojver-Ježek¹

¹ Odjel za pulmološku citologiju, Klinički zavod za patologiju i citologiju, Klinički bolnički centar Zagreb
marijana.mitar55@gmail.com

UVOD

Pneumocystis (carinii) jirovecii (PJ) čest je uzročnik upale pluća kod imunokompromitiranih bolesnika.

CILJ

Prikazati razlike u citomorfološkim karakteristikama PJ u uzorcima bronhoalveolarnog ispirka/lavaže (BAL) s obzirom na primjenu različitih metoda bojenja.

MATERIJALI I METODE

U istraživanju su korištena citološka stakla 241-og uzorka BAL-a uzorkovanih prilikom bronhoskopskog pregleda. Svaki uzorak BAL-a je rutinski podvrgnut obradi pomoću centrifuge (1500 rpm/ 5 min) i citocentrifuge (1000 rpm/ 5 min) bez prethodnog filtriranja, u Odjelu za pulmološku citologiju Kliničkog bolničkog centra Zagreb. Nakon fiksacije, sušenjem na zraku kroz dva sata, četiri citološka stakla s uzorkom BAL-a (2 razmaza i 2 citospina) obojana su metodom May-Grünwald Giemsa po Pappenhaimu (MGG). Dodatno, jedan razmaz i jedan citospin BAL-a fiksirani su u 96%-om etilnom alkoholu kroz 20 minuta te obojani metodom Rapid Papa. Po jedan razmaz i citospin BAL-a podvrgnuti su, neposredno nakon obrade, Kwik Diff metodi bojenja. Stakla su analizirana svjetlosnim mikroskopom pod povećanjem od 400 i 1000x. Pretraženi su trofozoiti i nakupine cista PJ.

REZULTATI I ZAKLJUČAK

Citološka stakla od 241-og uzorka BAL-a analizirana su tijekom petogodišnjeg razdoblja. Na temelju citomorfološke analize utvrđena je prisutnost PJ u 11 (3,87%) uzoraka BAL-a. U uzorcima BAL-a obojanih MGG metodom bojenja, trofozoiti PJ prikazani su kao inkluzije nalik na crvene točke okružene blijedoplavom citoplazmom. MGG obojane nakupine sluzi mogu često izgledati poput nakupina PJ. Kwik Diff metoda bojenja jasnije je prikazala trofozoite u odnosu na standardnu MGG metodu. Rapid Papa metoda bojenja istaknula je nakupine PJ cista ugrađenih u pjenaste eksudate, dajući im izgled saća. Metodama MGG, rapid Papa i Kwik Diff nisu se obojale stijenke cista. U uzorku BAL-a koji sadrži detritus, bakterije i tumorske stanice bilo je otežano prepoznavanje dijelova PJ. Zaključak: Za citomorfološku dijagnostiku PJ u uzorku BAL-a poželjno je kombinirati sve tri metode bojenja. Tumorske stanice i razne promjene na stanicama kao posljedica gljivičnih i virusnih infekcija, ukoliko se nađu u uzorku BAL-a, mogu usmjeriti dijagnozu u pogrešnom pravcu, neovisno o primjenjenoj metodi bojenja.

KLJUČNE RIJEČI

Pneumocystis (carinii) jirovecii, bronhoalveolarni lavat, MGG, rapid Papa, Kwik Diff

VERIFIKACIJA I UVOĐENJE U RUTINSKI RAD CITOLOŠKOG LABORATORIJA NOVOG KOMPLETA REAGENASA ZA DETEKCIJU AKTIVNOSTI ALKALNE FOSFATAZE

IVANA BARAĆ, Martina Bogdan Pleština

Odjel za citologiju, Klinički zavod za patologiju, sudsku medicinu i citologiju, Klinički bolnički centar Split
barac.ivana000@gmail.com

UVOD

Leukocitna alkalna fosfataza je izoenzim grupe hidrolaza koji djeluje u alkalnom okolišu. U zdravom organizmu stvara se u granulama neutrofilnih granulocita u post-mitotičkoj diferencijaciji i maturaciji. Razmazi periferne krvi ili koštane srži u rutinskom radu citološkog laboratorija testiraju se na aktivnost leukocitne alkalne fosfataze u diferencijalnoj dijagnostici hematoloških stanja. Netopljive precipitate koji nastaju testnom reakcijom moguće je vizualizirati standardnim svjetlosnim mikroskopom. Prilikom mikroskopiranja promatraju se neutrofilni granulociti: intenzitet i homogenost obojenja kao i broj te distribucija granula u citoplazmi.

CILJ

Naš cilj je bio verificirati specifičnost i osjetljivost te uvesti u rutinski rad uvesti novi set reagenasa za detekciju aktivnosti alkalne fosfataze.

MATERIJALI I METODE

Reagensi su testirani i prilagođavani na adekvatno razvučenim razmazima periferne krvi zdravih pojedinaca. Uzorak periferne krvi (diferencijalna krvna slika, DKS) uzorkovan je svježe, iz jagodice prsta, ne vađen u epruvetu s antikoagulansom kako ne bi došlo do inhibicije ispitivane enzimske reakcije. U procesu verifikacije uspoređivana su citološka stakla testirana na stari i novi reagens te potom na različite verzije reagensa novog proizvođača. Završno, odabrani testni reagens modificirali smo u više koraka te prilagođavali način izvođenja testa kako bi dobiveno citološko staklo bilo u skladu sa standardom utvrđenim u prethodnom radu sa starim testnim reagensom.

REZULTATI I ZAKLJUČAK

Modifikacija metode bila je potrebna jer je izvođenje testa prema uputi proizvođača bilo manjkavo. U usporedbi s prije korištenim reagensom, novi reagens nije davao zadovoljavajuće obojenje granula koje bi bilo moguće na adekvatan način kvalitativno i kvantitativno procijeniti. Fiksacija je standardizirana i produljena. Također, bilo je potrebno i standardizirati korištenje fiksativa koje se uz testni komplet za leukocitnu alkalnu fosfatazu nude kao mogućnosti. Odabran je reagens s glioksalom, dialdehidom koji na sobnoj temperaturi ne stvara pare čime se eliminira kancerogeni rizik te se zato često koristi kao zamjena za formaldehid. Također, količinu otopine potrebne za testiranje jednog razmaza periferne krvi bilo je potrebno povećati kako bi se postigla optimalna prekrivenost uzorka. Aktivnost leukocitne alkalne fosfataze u neutrofilnim granulocitima važan je pokazatelj u diferencijalnoj dijagnostici hematoloških stanja i maligniteta. Ukoliko se testovi izvode na nestandardiziran način i daju nekonzistentna obojenja citološki nalaz nije moguće izdati kao valjan, pouzdan. U rutinskom radu potrebno je koristiti i izvoditi laboratorijske testove, bojanja, koja će na optimalan način pomoći u lakšoj i točnoj procjeni aktivnosti alkalne fosfataze u leukocitima.

KLJUČNE RIJEČI

leukocitna alkalna fosfataza, diferencijalna krvna slika, citokemija

JELENA PLAZIBAT¹, Gordana Naglič¹, Marija Manestar Marčelja¹, Robert Meandžija¹, Irena Seili-Bekafigo¹, Koraljka Rajković Molek¹

¹ KBC Rijeka, Rijeka, Hrvatska
jelenaplazibat79@gmail.com

UVOD

Dobivanje uzoraka iz gastrointestinalnog sustava (GIS) vrlo je zahtjevno obzirom na smještaj lezije u jetri, pankreasu, koledokusu ili retroperitonealnim limfnim čvorovima. Minimalno invazivnim metodama dobivaju se citološki uzorci brisa koledokusa četkicom prilikom endoskopske retrogradne kolangiopankreatografije, transabdominalnom punkcijom tankom iglom (FNA) pod kontrolom UTZ-a ili CT-a ili punkcijom pod kontrolom endoskopskog ultrazvuka (EUS). Citološki uzorci su, ovisno o metodi, mehanički odljuštene stanice (eksfolijativna citologija), aspirat ili otisak tkiva („imprint“ citologija). Na ove je načine moguće dobiti adekvatan dijagnostički materijal, kojim će se potvrditi ili isključiti malignitet.

CILJ

Cilj ovog rada je da se na dobivenim uzorcima iz gastrointestinalnog sustava odredi udio neadekvatnih uzoraka.

MATERIJALI I METODE

U periodu od 2019-2022g. na Odjelu za opću citologiju, Kliničkog zavoda za patologiju i citologiju KBC Rijeka analizirano je ukupno 569 uzoraka iz GIS-a, od čega 277 otisaka bioptata jetre, 107 uzoraka iz gušterače dobivenih transabdominalnom punkcijom, 124 uzorka iz gušterače dobivenih EUS punkcijom i 61 uzorak brisa koledokusa četkicom. Dobiveni uzorci se razmazani su ili otisnuti na površinu predmetnog stakla. Prilikom EUS punkcija provedena je brza procjena adekvatnosti materijala (ROSE - „rapid on site evaluation“), što zahtijeva prisutnost citotehnologa i citologa prilikom izvođenja punkcije, brzo bojenje i mikroskopsku procjenu. Definitivni preparati sušeni su na zraku i bojani May-Gruenwald Giemsa metodom. Nalazi su klasificirani kao preoskudan ili neadekvatan uzorak, benigne promjene, atipija, suspektno na malignitet i maligne stanice.

REZULTATI I ZAKLJUČAK

Od ukupno 277 uzoraka otisaka bioptata jetre bilo je 187 (67%) pozitivnih na maligne stanice, suspektnih 6 (2%), atipija je nađena u 28 (10%) uzoraka, benignih 24 (9%), te 32 (12%) neadekvatna uzoraka. Od 107 uzoraka dobivenih transabdominalnom punkcijom 49 (46%) bilo je pozitivno na maligne stanice, suspektnih 8 (8%), atipičnih 13 (12%), benignih 12 (11%), te 25 (23%) neadekvatnih uzoraka. Od 124 uzorka gušterače dobivenih EUS punkcijom bilo je 50 (40%) pozitivnih na maligne stanice, suspektnih 9 (7%), atipičnih 23 (19%), benignih 6 (5%), te 36 (29%) neadekvatnih uzoraka, a od 61 uzorka brisa koledokusa četkicom 16 (26%) ih je pozitivno na maligne stanice, suspektnih 4 (7%), atipičnih 11 (18%), 7 (11%) benignih, te 23 (38%) neadekvatna uzorka. Zaključak: Citološkom analizom uzoraka dobivenih minimalno invazivnim tehnikama kod teško dostupnih lezija u GIS-u moguće je postaviti dijagnozu. Najboljim su se u tome pokazali otisci bioptata jetre, gdje je bilo najmanje neadekvatnih uzoraka. Da bi uzorak bio adekvatan i dijagnostički potrebna je suradnja citologa, citotehnologa i gastroenterologa te individualan pristup svakom pojedinom pacijentu.

KLJUČNE RIJEČI

Citološka analiza uzoraka, transabdominalna punkcija tankom iglom (FNA), punkcija pod kontrolom endoskopskog ultrazvuka (EUS)

P55

ODRŽIVOST I DJELOTVORNOST HISTOKEMIJSKIH METODA U USPOREDBI S IMUNOHISTOKEMIJSKIM METODAMA KOD DOKAZIVANJA *HELICOBACTER PYLORI*

ZVONKA BOGOVIĆ¹, Maja Horvat¹, Monika Ulamec¹, Alma Demirović¹

¹ KBC Sestre milosrdnice, Zavod za patologiju i citologiju Ljudevit Jurak
zvonkabogovic4@gmail.com

UVOD

Helicobacter pylori (HP) je Gram negativna bakterija koju pronalazimo na sluznici želuca. HP je jedna od najčešćih infekcija kod ljudi koja rezultira razvojem gastritisa kod zaraženih osoba, iako je kod većine asimptomatska. Podskupina zaraženih ljudi razvije ozbiljne bolesti kao što su ulkus dvanaesnika i želuca, te tumor želuca.

CILJ

Za dokazivanje *Helicobacter pylori* na sluznici želuca koristimo histokemijske (HK) i imunohistokemijske (IHC) metode. Standardna procedura u histopatološkoj detekciji *Helicobacter pylori* na sluznici želuca uključuje hemalaun-eozin (HE) bojanje i bojanje po Giemsi (histokemijska metoda). Bojanje po Giemsi je dobro uspostavljena, poznata, dostupna i jeftina metoda u usporedbi s imunohistokemijskom (IHC) metodom *Helicobacter pylori*.

MATERIJALI I METODE

Sve metode bojanja, hemalaun-eozin, bojanje po Giemsi (HK metoda) i bojanje *Helicobacter pylori* (IHC metoda) se rade na parafinskim rezovima tkiva sluznice želuca.

REZULTATI I ZAKLJUČAK

Godinama se raspravlja o korisnosti IHC metode (*H. pylori*) za dokazivanje *Helicobacter pylori* na sluznici želuca. Iz našeg iskustva ima mjesta za obje metode, pa smo uspostavili algoritam prema kojem se samo suspekti i nejasni slučajevi boje i analiziraju IHC metodom za dokazivanje *H. pylori* u sluznici želuca.

KLJUČNE RIJEČI

Helicobacter pylori, HK i IHC metode

P56

PRIPREMA PACIJENTA I UZORKOVANJE KRVI ZA LABORATORIJSKE PRETRAGE

BRANKA SKOKO¹, Judith Assoll Mirochnitchenko¹, Gordana Juričić¹

¹ OB Pula, Pula, Hrvatska
bskoko242@gmail.com

UVOD

Brojnim laboratorijskim metodama analizira se sastav krvi i tjelesnih tekućina, a rezultati analiza su laboratorijski nalazi koji su od velikog značaja za postavljanje točne dijagnoze bolesti koja je osnova uspješnog liječenja. Postoje čimbenici u različitim fazama laboratorijskog procesa koji utječu na njegovu promjenjivost. Najkritičnija faza je svakako predanalitička, koja najduže traje i uključuje najveći broj sudionika, a može se odvijati u samom laboratoriju kao i izvan njega npr. u liječničkim ordinacijama. Jedna od najvažnijih stavki u predanalitičkoj fazi ispravna je priprema pacijenta za vađenje krvi, pa stoga zahtjeva stalnu edukaciju svih sudionika u tom procesu: medicinskih sestara, osoblja laboratorija a ponajviše samih pacijenata.

CILJ

Ovim radom nastojalo se istražiti u kolikoj su mjeri pacijenti informirani o pravilnoj pripremi prije uzimanja uzoraka venske krvi, te gdje su najčešće pogreške, postoji li dovoljna edukacija osoblja u ordinacijama primarne zdravstvene zaštite ili je problem u zanemarivanju dobivenih uputa od strane samih pacijenata.

MATERIJALI I METODE

Za ovo istraživanje analizirani su podaci prikupljeni anonimnim anketnim upitnikom pripremljenim prema "Nacionalnim preporukama za uzorkovanje venske krvi HDMBLM". Podaci su prikupljeni na Odjelu za medicinsko biokemijsku djelatnost Opće bolnice Pula i obrađeni u Microsoft Excel 2016 programu. U obradi rezultata korišten je MedCalc R statistički program. Dobiveni rezultati prikazani su srednjom vrijednosti i postotkom.

REZULTATI I ZAKLJUČAK

Grupu od 100 pacijenata, sačinjavale su 72 žene (72%) srednje starosne dobi 46 godina i 28 muškaraca (28%) srednje starosne dobi 57 godina, različitog stupnja obrazovanja. Odgovori su pokazali da upute za pripremu za vađenje krvi pacijenti najvećim dijelom dobivaju u ordinacijama obiteljske medicine (56%), zatim u laboratoriju (27%), te najmanjim dijelom osobnim informiranjem putem interneta (17%). U dobivenim rezultatima ističe se nerazumijevanje pojma "natašte" iako čak 94 % pacijenata tvrdi da su pri dolasku u laboratorij ispoštovali zahtjev nekonzumacije hrane. Naime, pod pojmom natašte podrazumijevaju biti bez jela manje od 8 sati. 71% pacijenata potvrdio je znanje o ispravnom prikupljanju jutarnje mokraće, ali na upit o pojašnjavanju postupka nije znalo odgovoriti. Dobiveni odgovori pokazali su da educiranost pacijenata nije na zadovoljavajućoj razini, što ukazuje na potrebu za dodatnim i stalnim informiranjem temeljnim uputama prije vađenja krvi u čemu dodatnu aktivnost mora iskazati laboratorijsko osoblje koje će prirediti i dostaviti upute svojim korisnicima.

KLJUČNE RIJEČI

predanalitička faza, priprema pacijenta, anketno ispitivanje

KATARINA VRDOLJAK¹, Valerija Frigo¹

¹ KBC Zagreb, Zagreb, Hrvatska
katarina_vrdoljak7@hotmail.com

UVOD

Implementacija elektroničkih uputnica (e-Uputnica) predstavlja nastavak aktivnosti u informatizaciji zdravstvenog sustava u sklopu programa integriranog nacionalnog zdravstvenog informacijskog sustava (CEZIH). Navedeno omogućuje optimizaciju procesa upućivanja i prijavljivanja pacijenata na specijalističko konzilijarnu zdravstvenu zaštitu (SKZZ) kao i povratnu informaciju liječnicima primarne zdravstvene zaštite (PZZ) o rezultatima pregleda i nalazima. Implementacijom e-Uputnice za laboratorij nestaje pojam nepodignutog nalaza. Za liječnike PZZ e-Uputnica predstavlja veliki korak u poboljšanju rada i smanjenju administrativnih poslova.

CILJ

Poboljšati kvalitetu zdravstvene skrbi te ubrzati upis pacijenata i smanjiti pogreške koje nastaju zbog krivog upisa generičkih podataka o pacijentu. Osigurati dostupnost e- Nalaza u e- Kartonu građana putem Portala zdravlja.

MATERIJALI

U bolničkim ustanovama potrebno je osigurati tehničke i organizacijske preduvjete, informatizirati liječničke ordinacije, educirati medicinsko osoblje koje će raditi u sustavu CEZIH i dodijeliti im pametne kartice koje sadrže elektronički certifikat za pristup CEZIH-u, osigurati pristup internetu, kao i osigurati informatičku podršku u slučajevima nemogućnosti korištenja CEZIH-a. Bolnički i laboratorijski informacijski sustavi (BIS,LIS) moraju biti konsolidirani i oba moraju komunicirati s CEZIH-om.

METODE

Korištenje podataka iz informacijskih sustava: bolnički i laboratorijski informacijski sustavi (BIS,LIS) i CEZIH.

REZULTATI I ZAKLJUČAK

Implementacija e-Uputnica osigurala je brzu i transparentnu izmjenu medicinskih zapisa između liječnika i laboratorija kao i dostupnost e-Nalaza svima koji sudjeluju u procesu liječenja. Neometan protok informacija omogućio je pacijentima da dođu do neophodnog liječenja ili dijagnostičkog postupka u prihvatljivom vremenskom intervalu, osiguravajući i povećavajući njihovo povjerenje u zdravstveni sustav. Sve navedeno povećalo je kvalitetu zdravstvene usluge za pacijenta, smanjilo troškove nepotrebnog ispisivanja papirnatih uputnica i nalaza.

KLJUČNE RIJEČI

CEZIH, e-Uputnice, a-Nalaz

IVANA MIHALJEVIĆ¹

¹ KBC Zagreb, Zagreb, Hrvatska
Ljupkomihaljevic@net.hr

Sve veći broj zdravstvenih radnika odlučuje se na odlazak u inozemstvo potaknuti pozitivnim iskustvima svojih kolega iz struke koji su to već učinili. Gledajući po statistici postotak zdravstvenih radnika koji su otišli u inozemstvo je između 10 – 35% .

Vjerujemo da bih se povećanjem plaća i koeficijenta otvorio prostor za ostanak barem dijela radne snage – onih se odlučuje na odlazak motivirani nemogućnosti podizanja vlastite obitelji s trenutnim primanjima.

No, nisu plaće jedini motiv za odlazak, tu su i drugačiji, odnosno povoljniji uvjeti rada. Bolja opremljenost zdravstvenih ustanova zasigurno bi mogla biti ono što će rad u drugoj zemlji našem radniku učiniti privlačnim. Na taj način, radeći s modernijom tehnologijom, zdravstveni radnik je u mogućnosti ići u korak s promjenama te tako održavati vlastitu konkurentnost na tržištu rada.

Takva trenutna situacija sa zdravstvenim radnicima je neodrživa, jer sustav sam sebi čini štetu – država troši velike količine novaca na školovanje zdravstvenih radnika, koji nakon toga odlaze u inozemstvo i sudjeluju u izgradnji njihove ekonomije, a ne državu koja ih je osposobila za zanimanje kojim se bave.

Posljedice masovnog odlaska zdravstvenih radnika iz Hrvatske vidljive su već godinama. Nedostatak osoblja koje bi na vrijeme obrađivalo pacijente rezultira dugim listama čekanja, odgađanjima postupaka, zahvata i liječenja, slijedom toga i dolazi do prekasnog otkrivanja određenih bolesti i stanja. Tada na državu pada još veći trošak liječenja takvih pacijenata, čije bi se zdravstveno stanje, da je ranije otkriveno, tretiralo na mnogo lakši način što za pacijentovo zdravlje, što za troškove koji nastaju ustanovama

Osim toga, obujam posla je prevelik za količinu trenutno zaposlenih zdravstvenih radnika, koji onda nisu u mogućnosti posao obaviti na adekvatan način. Stvara se atmosfera preopterećenosti poslom, što također ima negativan utjecaj na psihičko zdravlje osoblja. S druge strane, pojedini zdravstveni radnik, da bi stigao obraditi sve što se zahtjeva, mora skratiti vrijeme koje troši na obradu pojedinog pacijenta , te ne može svakome posvetiti adekvatnu količinu pažnje koja je potrebna za kvalitetno i precizno dijagnosticiranje.

KAZALO AUTORA / AUTHOR INDEX

A

Abramović Martina 68, 123
Acman Barišić Ana 54
Anđelić Dmitrović Barbara 56
Anđelić Mirna 35
Arapović Jurica 76
Assoll Mirochnitchenko Judith 131
Azinović Lucija 68

B

Babić Ivana 80
Babić Nikolina 107
Bakula Marina 57, 69
Banić Marija 88
Bannister Jolene Christina 91
Barać Antonela 69
Barać Antonio 65
Barać Ivana 128
Barać Žutelija Jelena 69
Barišić Lapić Ivana 98
Barišić Zvonimir 59
Barušić Zoran 114
Batarelo Mirica 47
Batinić Ana 74, 117
Begić Gabrijela 61
Belčić Velimir 92, 93
Bingulac-Popović Jasna 80
Blažević Lada 80
Bocka Bojana 120
Bogdan Pleština Martina 128
Bogović Zvonka 125, 130
Bohnert Paul 59
Bosak Ana 121
Bošnjak Zrinka 55, 121
Breški Anita 123
Brnetić Liljana 58

Budimir Ana 38, 55, 63, 118

Bugarin Anđelka 110

Bulimbašić Stela 123

Burčul Franko 74

Burek Kamenarić Marija 82

Burić Davorka 122

C

Caban Domagoj 54

Cartelli Daniele 35

Cazzato Daniele 35

Čenko L. 94

Coce Žec Andreja 87

Crkvenac Gornik Kristina 112

Culej Jelena 90

Cvijanovic Pelosa Olga 61

Č

Čavka Bruna 89

Čečuk-Jeličić Esma 30, 88

Ć

Ćorić Mario 121

Ćorković Benjamin 92, 93

Ćurčić Maja 90

Ćuruvija Ivor 80

D

D'Amato Illaria 35

Davidović-Mrsić Sanja 99

Demirović Alma 130

Dib-Hajj Sulayman 35

Didić-Ilijaš Stanislava 68

Dijanić Marijana 98

Dilberović Admir 76, 78

Dodig Marija 68

Domitrek I. 94

Dreznjak Ana 101

Drljo Melina 33
Drmić Marija 89
Drvar Vedrana 85
Dukić Simona 79
Duvančić Tea 86, 109

DŽ

Džajić Anica 114

Đ

Đira Anđelka 99, 100
Đurek Valentina 116
Đurić Dajana 46
Đurić Lidija 118
Đurinec P. 40

E

Erceg Ivkošić Ivana 67

F

Faber Catharina G. 35
Ferenčak Ivana 120
Flam Josipa 102
Florijančić Mirela 102
Franić Šimić Ivana 99
Frigo Valerija 132
Fureš Rajko 67

G

Galijašević Kenan 52
Ganoci Lana 108
Gavran Marija 112
Gelemanović Andrea 35
Glavaš Kristina 36
Glavaš-Obrovac Ljubica 36, 48
Glegj Mirna 110
Glodić Goran 119
Gobin Ivana 61
Grgurić Jasenka 113
Grubić Zorana 83, 84
Grubišić Kristina 85

H

Hajro Sanela 33
Harabajsa Suzana 127
Haršanji Drenjančević Ivana 110
Hasković Eedhem 52
Hećimović Ana 81
Hoeijmakers Janneke G.J. 35
Honović Lorena 91
Horvat Maja 125, 130
Hren Marija 90
Hrg Sara 123
Hrkać Mladenka 105
Huljev Frković Sanda 112

I

Ibrahimagić Amir 62
Ilić B. 40
Imbrija Ema 120
Ivančić-Baće Ivana 55
Iveljić Mario 80
Ivezić Zoran 107

J

Jakovčević Antonia 126
Jaman Sonja 88
Janković Makek Mateja 119
Janjić Mirela 122
Jelčić Diana 101
Jelić Gordana 122
Jelovica Badovinac Ivana 61
Jerković Ivan 95
Jerković Jadranka 111
Jirouš Maja 36
Jović Mirjana 87
Jukić Lucija 82
Jurak Marijana 111
Juras Ana 112
Juričić Gordana 131
Jurić Ivana 55, 121

K

Kalajžić Nina 74, 117
Kaliterna Vanja 59
Karakasić Valentina 80
Karleuša Ljerka 61
Katalinić Nataša 48
Katavić Jelena 95
Kihar Davor 79
Kišija-Bajrić Jasmina 71
Kočnar Nikolina 92, 93
Kola Ivan 78
Kola Lidija 76, 78
Kos Matea 70
Košar Tian 120
Kovačević Tatjana 68
Kralik Kristina 61
Krenajz Vlasta 63
Krupec Ana-Marija 127
Krušlin Božo 69, 125
Kuić-Vadlja Vesna 103, 104
Kuiš Davor 61
Kuliš Tomislav 55, 119
Kuret Sendi 117
Kurolt Ivan-Christian 56
Kušec Vesna 32, 86, 109
Kušpilić Maja 100
Kvesić Ana 107

L

Lauria Giuseppe 35
Lazar Ivana 124
Leovac Lucija 123
Lešin Joško 121
Liber Ena 96
Lilić Marko 48
Lombardi Raffaella 35
Lončar Željko 106
Lovrić Marija 59
Lozić Eleonora 115
Lubina Željka 81
Lukić Amalija 60, 118

LJ

Ljubas Dominik 120
Ljubić Hana 54

M

Majdak Miljenko 40
Malenica Iva 88
Maleta Božana 122
Manestar Marčelja Marija 129
Marchi Margherita 35
Marcuzzo Stefania 35
Marczi Saška 110
Mareković G. 40
Mareković Ivana 55, 119, 121
Marić Danijela 126
Marinović Branka 39
Markanović Manda 55, 64, 118, 119
Martinez Natalija 47
Martinović Ana 120
Martinović Dolores 76
Martinović Marina 51
Marušić Ivana 90
Marušić Zlatko 41
Maskalan Marija 83, 84
Mataić Ana 68
Matijević Sandra 94
Matišić Danica 31
Meandžija Robert 129
Medač Čorak Petra 92, 93
Mehmeti Elkadia 35
Mekota Ines 100
Mendes Fernando 27
Merčep Filipa 59
Merkler Šorgić Ana 54
Mezak Herceg Maja 108
Mihaljević Ivana 133
Mikulić Ivanka 112
Milec Natalija 86, 109
Miličević Ana Marija 100
Milutin Gašperov Nina 67
Milutin Lucija 127

Milutinović Vuk 122
Mirković Zrinka 108
Miškulin Maja 89
Mitrić Marija 96
Mitrović Stjepan 56
Mujić Franić Aida 48

N

Nadrčić Milena 88
Naglić Gordana 129
Nešković Nenad 110
Novak Sanja 100

O

Ognjenović Ana 122
Ogrizović Ban Tanja 85
Opačak-Bernardi Teuta 36, 72

P

Paić Frane 113
Palu Giorgio 24
Panceti Nora 122
Paolini Matilde 35
Paravić Radičević Andrea 122
Pardo Carlotta 35
Pavlović Danijela 126
Pavlović Tihomir 100
Penezić Luka 63
Peris Ana 122
Periš Antonio 73
Pešut Ana 60
Pešut Ena 67
Petrić Neno 118
Petrović Karolina 54
Petrović Sanela 103, 104
Piškor Jelena 83
Plazibat Jelena 129
Pleško Sanja 118
Plužarić Vera 36
Pobrić Ehlimana 52
Poljak Ozrenka 126
Posavec Petra 126

Primorac Dragan 22
Prisuda Sonja 103, 104
Puljčan Katja 111

R

Radičević Nevena 66
Radić Nives 87
Rajković Molek Koraljka 129
Rako Ivana 54
Ratkajec Ljiljana 123
Ražnjević Katarina 126
Rebrina Matea 77
Repić I. 40
Rogalo Kristina 60, 118
Rupčić Maja 105

S

Sabadi Dario 110
Sabol Ivan 67
Sakalj Matija 97
Salvi Erika 35
Samardžija Marina 110
Seili-Bekafigo Irena 129
Seiwerth Sven 68
Semren Iva 99
Sever Anita 87
Sinković Vlatka 49
Skerlev M. 40
Skoko Branka 131
Slišković Livija 95
Smajić Emina 53
Smojver-Ježek Silvana 43, 127
Spudić Ivona 56
Sršen Nela 23
Stanić Ana 76
Strelar Dorotea 96
Strnad Danijela 118
Stupnišek Mirjana 26
Sutlović Davorka 37, 74, 117
Suver Stević Mirjana 110
Svetec Magdalena 82
Sviličić Danijela 84

Š

Ščrbak Ivana 123
Šegulja Dragana 31
Šimičević Livija 108
Šimić Ivana 67
Šimić Vesna 127
Šimleša Tanja 101
Šiško Kraljević Katarina 89
Šlegl Sandra 66
Šola Marija 36
Štanfel Jasna 103, 104
Štefanić Mario 36
Štimac Maja 106
Štingl Janković Katarina 29, 83
Šupe-Domić Daniela 88, 101
Šušković-Medved Snježana 127

T

Tabain Irena 120
Tandara Leida 95
Tarle Andreja 126
Tepeš Davor 97
Tokalić Antonela 88
Tokić Stana 36
Tolušić Levak Maja 36
Tomas Matea 81
Tomas Željka 86, 109

U

Ulamec Monika 125, 130

V

Valentić Josip 80
Varganović Dijana 102
Vasilj Ankica 66
Vidić Paulišić Ivanka 124
Vidmar Valerija 99, 100
Vidović Iviš Sonja 122
Viljetić Barbara 36
Vinković Matea 81
Vrabec Branica Božica 127
Vranjković Marijana 127
Vrbanić Zdravko 98
Vrdoljak Katarina 132
Vrdoljak-Možetič Danijela 42
Vrzić Darija 86, 109
Vujin Željka 111
Vukosavljević Tamara 91

W

Waxman Stephen G. 35

Ž

Žele Starčević Lidija 63
Žiger Ivana 100
Živatović Karlo 50
Živković Zorislava 72
Žugčić Ivana 99
Žugčić Ivana 100
Žuljević-Mikas Ivan 115
Žunec Renata 28, 47, 84

SPONZORI / SPONSORS

BRONČANI SPONZOR



A&B d.o.o.
Slavonska avenija 26/12
10000 Zagreb, Croatia
e-mail: info@aandb.hr
www.aandb.hr

SPONZORI



AstraFokus



tehmed





ISBN 978-953-50750-0-4