



U OVOM BROJU

8. kongres Hrvatskog društva za medicinsku biokemiju i laboratorijsku medicinu s međunarodnim sudjelovanjem

22. – 26. rujan 2015.
Rijeka, Hrvatska

KNJIGA SAŽETAKA

IN THIS ISSUE

8th Congress of the Croatian Society of Medical Biochemistry and Laboratory Medicine with international participation

22 – 26 September 2015
Rijeka, Croatia

ABSTRACT BOOK



<http://www.biochemia-medica.com>

Editorial Board

Lidija Bilić-Zulle (Rijeka, Hrvatska)
Goce Dimeski (Brisbane, Australia)
Minodora Dobreanu (Targu Mures, Romania)
Slavica Dodig (Zagreb, Croatia)
Štefica Dvornik (Rijeka, Croatia)
Kjell Grankvist (Umea, Sweden)
Todor Gruev (Skopje, Macedonia)
Joao Tiago Guimaraes (Porto, Portugal)
Dalibor Karlović (Zagreb, Croatia)
Gabor L. Kovacs (Pecs, Hungary)
Giuseppe Lippi (Parma, Italy)
Janja Marc (Ljubljana, Slovenia)
Zlata Mujagić (Tuzla, Bosnia and Herzegovina)
Mads Nybo (Odense, Denmark)

Publisher

Croatian Society for Medical Biochemistry and Laboratory
Medicine

Co-publisher

Medicinska naklada, Zagreb, Croatia

For publisher

Anđa Raič, prof.

Edition

500 copies

Journal DOI

<http://dx.doi.org/10.11613/issn.1846-7482>

Editor-in-Chief

Ana-Maria Šimundić (Zagreb, Croatia)

Assistant Editors

Ana Bronić (Zagreb, Croatia)
Lora Dukić (Zagreb, Croatia)
Marijana Miler (Zagreb, Croatia)
Nora Nikolac (Zagreb, Croatia)
Daria Pašalić (Zagreb, Croatia)
Vanja Radišić Biljak (Sisak, Croatia)
Andrea Saračević (Zagreb, Croatia)

Research Integrity Editor

Vesna Šupak Smolčić (Rijeka, Croatia)

Tomris Özben (Antalya, Turkey)
Vladimir Palicka (Hradec Králové, Czech Republic)
Mario Plebani (Padova, Italy)
Mladen Petrovečki (Zagreb, Croatia)
Demetrios Rizos (Athens, Greece)
Željko Romić (Zagreb, Croatia)
Ilza Salamunić (Split, Croatia)
Rosa Isabella Sierra-Amor (Veracruz, Mexico)
Ana Stavljenić-Rukavina (Zagreb, Croatia)
Grazyna Sypniewska (Bydgoszcz, Poland)
Elizabeta Topić (Zagreb, Croatia)
Kamen Tzatchev (Sofia, Bulgaria)
Renata Zadro (Zagreb, Croatia)
Tihana Žanić-Grubišić (Zagreb, Croatia)

Typesetting

Grafički studio "MM", Braće Radića 122, Mraclin, Croatia

Indexed in

PubMed/Medline
PubMed Central
ScienceCentral
Science Citation Index Expanded (SCIE, Thomson Reuters)
JournalCitation Reports/Science Edition (JCR, Thomson Reuters)
EMBASE/Excerpta Medica
Scopus
EBSCO/Academic Search Complete
DOAJ (Directory of Open Access Journals)

Biochemia Medica is printed on acid-free paper.

Biochemia Medica is the official journal of the Croatian Society for Medical Biochemistry and Laboratory Medicine with international peer-review. The journal is published three times per year in print and electronic form (<http://biochemia-medica.com>). Manuscripts should be submitted using online submission system, only. All manuscripts are peer reviewed by at least two independent reviewers. Subscription rate: an annual volume in the country is 400 kn for institutions, and 200 kn for individuals, all other countries 75 EUR, payable to the account: IBAN: HR 712360001101318371, or ZABA HRXX 2500-3296504. Publication of the Journal is supported by the Croatian Ministry of Science, Education, and Sports.

Sadržaj

Uvodno predavanje	5
Razvoj kompetencija u biomedicini <i>Arijana Meštrović</i>	5
Plenarna predavanja	7
PL1: Harmonizacija u laboratorijskoj medicini <i>Mauro Panteghini</i>	7
PL2: Indikatori kvalitete u laboratorijskoj medicini <i>Mario Plebani</i>	8
PL3: Značaj biološke varijabilnosti <i>Anna Carobene</i>	9
Simpozijaska predavanja	11
S1 – Laboratorijska dijagnostika tumora	11
S2 – Koagulacija	16
S3 – Harmonizacija	21
S4 – Laboratorijska dijagnostika bolesti bubrega	26
S5 – Molekularna dijagnostika	31
S6 – Predanalitička faza laboratorijskog rada	35
S7 – Laboratorijska automatizacija	41
S8 – Biostatistika	46
S9 – Upravljanje kvalitetom laboratorijskog rada	49

Contents

Key note lecture	5
Competency development in biomedicine <i>Arijana Meštrović</i>	5
Plenary lectures	7
PL1: Global harmonization in laboratory medicine <i>Mauro Panteghini</i>	7
PL2: State of the art of laboratory quality indicators <i>Mario Plebani</i>	8
PL3: Biological variation remains relevant <i>Anna Carobene</i>	9
Symposium lectures	11
S1 – Tumor diagnostics	11
S2 – Coagulation	16
S3 – Harmonization	21
S4 – Laboratory diagnostics of kidney disease	26
S5 – Molecular diagnostics	31
S6 – Preanalytical phase	35
S7 – Laboratory automatization	41
S8 – Biostatistics	46
S9 – Quality in laboratory medicine	49

Posterski sažetci	55
A – Laboratorijska dijagnostika i praćenje zloćudnih bolesti	55
B – Statistička obrada laboratorijskih podataka	61
C – Harmonizacija u laboratorijskoj medicini	69
D – Biljezi bolesti bubrega i mokraćnog sustava	71
E – Molekularna dijagnostika	72
F – Automatizacija laboratorijskih postupaka i procesa	74
G – Akreditacija, organizacija, kvaliteta i upravljanje u laboratoriju	80
H – Laboratorijska hematologija i koagulacija	108
I – Predanalitička i poslijeanalitička faza laboratorijskog rada	114
J – Ostalo	126
Kazalo autora	156

Poster abstracts	55
A – Laboratory diagnostics and monitoring of malignant diseases	55
B – Statistical analysis of laboratory data	61
C – Harmonization in laboratory medicine	69
D – Markers of kidney and urinary tract diseases	71
E – Molecular diagnostics	72
F – Automatization of procedures and processes in laboratory medicine	74
G – Accreditation, organization, quality and laboratory management	80
H – Laboratory hematology and coagulation	108
I – Preanalytical and postanalytical phase of laboratory work	114
J – Other	126
Index of authors	156

8. kongres Hrvatskog društva za medicinsku biokemiju i laboratorijsku medicinu s međunarodnim sudjelovanjem

HKD na Sušaku i Hotel Neboder
Rijeka, Hrvatska, 22. – 26. rujan 2015.

8th Congress of the Croatian Society of Medical Biochemistry and Laboratory Medicine with international participation

HKD Sušak and Hotel Neboder
Rijeka, Croatia, 22 – 26 September 2015



Organizator / Organizer

Hrvatsko društvo za medicinsku biokemiju i laboratorijsku medicinu
Croatian Society of Medical Biochemistry and Laboratory Medicine

Pokrovitelji / Auspices

International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine – IFCC
European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine – EFLM
Ministarstvo znanosti, obrazovanja i sporta Republike Hrvatske /
Republic of Croatia Ministry of Science, Education and Sports
Ministarstvo zdravlja Republike Hrvatske / Republic of Croatia Ministry of Health

Znanstveni odbor / Scientific Committee

Lidija Bilić-Zulle, predsjednica / president

Karmela Barišić

Lorena Honović

Nora Nikolac

Daria Pašalić

Dunja Rogić

Ana-Maria Šimundić

Organizacijski odbor / Organizing Committee

Koraljka Mittel, predsjednica / president

Dragana Antončić

Merica Aralica

Vedrana Drvar

Snježana Hrabrić Vlah

Nora Nikolac

Vesna Šupak Smolčić

Anđela Žic

Tajništvo kongresa / Congress Secretariat

Jasna Đogić – tajnica / secretary

e-mail: info.Rijeka2015@hdmbim.hr

<http://kongresrijeka2015.hdmbim.hr>

Hrvatsko društvo za medicinsku biokemiju i laboratorijsku medicinu /

Croatian Society of Medical Biochemistry and Laboratory Medicine

Boškovićeve 18

10000 Zagreb, Hrvatska / Croatia

tel/fax: +385 1 48 28 133

KL

Razvoj kompetencija u biomedicini

Arijana Meštrović

Pharma Expert, Zagreb, Hrvatska

Kompetencija je sposobnost temeljena na učincima i postignućima, ostvarenim pri obavljanju nekog posla, a čine je vještina, znanje i iskustvo, te ovisi izravno o ljudskom zalaganju. Kompetentan zdravstveni stručnjak posjeduje znanje, iskustvo, vještine i stavove, no ključno je da posjeduje motivaciju da u određenom trenutku svoja znanja i iskustva pokaže u korist pacijenta prema kojem je usmjerena njegova usluga. Edukacija ima važnu ulogu u razvoju teoretskog i praktičnog znanja, ali i u razvoju stavova, intuicije, motivacije i humanosti. Prihvatanjem činjenica vježbom, iskustvom i aktivnim sudjelovanjem u stvarnom, socijalnom životu, edukacijom je moguće razviti stručno-znanstvene kompetencije. Ovo će izlaganje prikazati mogućnosti evaluacije kompetencija, ali i edukacijske procese kojima je cilj uspostaviti povezanost između teorije i prakse, znanosti i struke, te povećati razinu kompetencija. Evaluacija znanja, vještina i sposobnosti daje sliku trenutnog stanja, te može poslužiti kao polazište za razvoj ljudskih potencijala. Ocjenjivanje kompetencija se vrlo često uklapa u razvojne procese organizacija ili nacionalnih strukovnih udruga. Modeli procjenjivanja kompetencija mogu biti prosudbeni ili razvojni. Prosudbeni modeli potpomažu sustave upravljanja ili nadzorne modele ovlasti, pa najčešće služe kao premissa kod odlučivanja o napredovanju, nagradama ili sankcijama u poslovnim procesima. Razvojni model se više usmjerava na potencijal pojedinca nego na trenutno stanje, pa i sami sudionici ocjenjivačkog procesa radije u njemu sudjeluju, te ulaze u otvorene dijaloge i planiranje vlastita razvoja. Kompetencije organizacije i managementa i stručne kompetencije mogu se razvijati praksom, samostalnim ili organiziranim učenjem, formalnom naobrazbom, mentoriranim posjetama, rotiranjem poslova i odgovornosti, te izmjenom iskustva. Metode edukacije odabiru se između predavanja, rasprava, tiskanih materijala, praktičnih tehnika i metoda oblikovanja ponašanja. Profesionalne i osobne kompetencije obuhvaćaju osobna zalaganja i individualnu dodanu vrijednost pojedinca stručnim kompetencijama i kompeten-

KL

Competency development in biomedicine

Arijana Meštrović

Pharma Expert, Zagreb, Croatia

Competence is ability based on outcomes and professional achievements. Knowledge, skills and experience are main component of competence. Level of competence is directly influenced by level of motivation of the healthcare professional to help the patient in concrete situation. It is the individual ability to make deliberate choices from a repertoire of behaviours for handling situations and tasks in specific context of professional biomedicine practice, by using and integrating knowledge and personal values, in accordance with professional role and responsibilities.

Education plays important role in development of practical and theoretical knowledge, but also in development of attitudes, intuition, motivation and humanity. It is possible to develop competencies by accepting facts, by exercise, experience and active participation in social life of the community.

This presentation will show various possibilities not only for competency evaluation, but also for teaching methodologies, which aim to connect science and practice to increase the level of competence. Evaluation of knowledge, skills and attitudes can determine actual level of competence, but it can also serve as a starting point for workforce development. Often, such evaluation is important part of human resources development on organisational level. Evaluation models are supporting management and organisation activities, serving as a base for advancing in career paths. Very often, if evaluation is part of development process, healthcare professionals are willing to participate and contribute to the process. Organisation and management competencies can be developed in practice, by independent or organized learning, formal education, mentored visits, rotations, and experience exchanges. Methods of training are selected between lectures, discussions, printed materials, practical techniques and methods of behaviour shaping. Professional and personal competencies include personal commitment and individual values - added to the individual professional competence.

cijama upravljanja i organizacije. Postoji snažna povezanost između osobne kompetencije i sigurnosti pacijenta. Te su kompetencije usmjerene ne samo na izvršavanje zadataka, nego i na usvajanje određenih oblika ponašanja, kako bi skrb za bolesnika imala željenu kvalitetu. Kompetentan zdravstveni radnik jest stoga onaj, koji svoje odluke temelji prije svega na znanstvenom znanju, ali jednako tako i na etičkim vrijednostima, praktičnom iskustvu, te motivaciji da bolesniku pruži ohrabrenje u ostvarenju pozitivnog ishoda liječenja. Dakako, ovome valja pridodati i poznavanje propisa, procjenu prioriteta i rizika, usklađenost s pravilima struke, te racionalno razmišljanje, kritički pristup i rješavanje etičkih dvojbi. Briga o usavršavanju i razvoju znanja i vještina, otvorenost za učenje, prenošenje znanja i iskustva i pomicanje granica očekuju se od svih članova biomedicinskog tima, a osobito voditelja i iskusnih kolega u dinamičnom kontinuumu u kakvom se danas nalazi medicinska biokemija i rad laboratorija. Razina profesionalnih kompetencija pokazuje naše prepoznavanje važnosti timskog rada, poštivanje autoriteta, sposobnost procjene prioriteta i prilagodbe sustavu u kojem djelujemo kao stručnjaci. Osobne kompetencije jasno otkrivaju volju i želju za angažmanom, aktivnom doprinosu, kolegijalnost i etički profil. One vrlo često utječu na zadovoljstvo članova našeg tima, upravljačkih struktura, samih pacijenata i struke u javnosti općenito. Napredna razina kompetencija obuhvaća planiranje vlastita razvoja, vodstvo i propadnost struci, interprofesionalnu suradnju i kolaborativnu praksu, istraživanja i međunarodnu aktivnost, mentoriranje i vođenje projekata, inovacije i angažman u nacionalnim i međunarodnim institucijama.

e-adresa: arijana.mestrovic@pharmaexpert.hr

There is a strong correlation between personal competencies and patient safety. These competencies are focused not only on performance, but also on certain forms of behaviour, to assure the patient care has the desired quality.

Competence is ability of the individual to perform his/her duties accurately, make correct judgments, and interact appropriately with patients and colleagues. Professional competence is characterized by good problem solving and decision-making abilities, a strong knowledge base, and the ability to apply knowledge and experience to diverse patient care situations.

Some other things to be added to the competency evaluation are regulations understanding, assessment and prioritization, risk management, compliance with the rules of the profession, and rational thinking, critical approach and ethical attitudes.

Competent healthcare professional cares for the training and development of skills and knowledge, shows openness to learning, transfer of knowledge and experience. Pushing the boundaries is to be expected of all members of the biomedical team; especially managers and experienced colleagues in a dynamic continuum in the medical biochemistry and laboratory operations are today. The level of professional competence demonstrates our recognition of the importance of teamwork, respect for authority, ability to assess priorities and to adapt the system in which we act as professionals. Personal competence clearly reveals the will and desire for engagement, active contribution, collegiality and ethical profile. They often affect the satisfaction of our team members, management structures, the patients and the profession in general.

Advanced level of competence includes continuing professional development, leadership and dedication to the profession, interprofessional collaboration and collaborative practice, research and international activity, mentoring and project management, innovation and engagement in national and international institutions.

e-mail: arijana.mestrovic@pharmaexpert.hr

PL1

Harmonizacija u laboratorijskoj medicini

Mauro Panteghini

Centre for Metrological Traceability in Laboratory Medicine (CIRME), University of Milan, Milan, Italy

Harmonizacija u laboratorijskim ispitivanjima više je od same analitičke harmonizacije. Ona uključuje sve aspekte ukupnog postupka ispitivanja od "pre-pre-analitičke" faze preko same analize do "post-post-analitičke" faze. Brzo dostupni i točni rezultati mogu imati ograničenu vrijednost ako se ne mogu međusobno usporediti, ako su izrađeni s pogrešnim materijalom ili neprikladnim dijagnostičkim radnim slijedom. Harmoniziranje predanalitičke faze zahtjeva uporabu standardiziranih operativnih postupaka za ispravan odabir testova, sakupljanje uzoraka i postupanje s uzorcima, dok su standardizirana terminologija testova i jedinica te ispravna primjena mjeriteljske sljedivosti, prema ISO standardu 17511, nužne da bi se osigurala istovjetnost rezultata mjerenja. Uporaba harmoniziranih referentnih intervala i granica odluke smanjiti će broj netočnih kliničkih interpretacija i nepotrebnih laboratorijskih ispitivanja. U postanalitičkoj fazi, harmonizirani postupci upravljanja kritičnim rezultatima laboratorijskih testova neophodni su kako bi se poboljšala kvaliteta usluge i osigurala sigurnost pacijenta. Praćenje ishoda harmonizacije provodi se nadzorom od strane EQAS-a koji koristi komutabilne materijale te nadziranjem „pre-pre-analitičke“ i „post-post-analitičke“ faze. Uspješna primjena harmonizacije u laboratorijskim ispitivanjima zahtjeva sudjelovanje svih dionika, uključujući kliničke laboratorije, dijagnostičku industriju, kliničare, strukovne udruge, davatelje IT usluga, zastupnike korisnika i državnih institucija. Harmonizacija će povećati vrijednost laboratorijskih rezultata olakšavajući njihovu interpretaciju i time unaprjeđujući pacijentov ishod.

e-adresa: mauro.panteghini@unimi.it

PL1

Global harmonization in laboratory medicine

Mauro Panteghini

Centre for Metrological Traceability in Laboratory Medicine (CIRME), University of Milan, Milan, Italy

Harmonization in laboratory testing is more than merely analytical harmonization. It includes all aspects of the total testing process from the "pre-pre-analytical" phase through analysis to the "post-post-analytical" phase. Rapidly available and precise results can indeed be of very limited value if they cannot be compared with each other, are produced on a wrong material or within an inappropriate diagnostic workflow. Harmonizing the pre-analytical phase requires use of standardized operating procedures for correct test selection, sample collection and handling, while standardized test terminology and units and correct implementation of metrological traceability, according to ISO standard 17511, are required to ensure equivalency of measurement results. Use of harmonized reference limits and decision levels will reduce inaccurate clinical interpretation and unnecessary laboratory testing. In the post-analytical phase, harmonized procedures for the management of critical laboratory test results are required to improve service quality and ensure patient safety. Monitoring of the outcomes of harmonization activities is through surveillance by EQAS that use commutable materials and auditing of the "pre-pre-analytical" and "post-post-analytical" phases. Successful implementation of harmonization in laboratory testing requires input by all stakeholders, including the clinical laboratory community, diagnostics industry, clinicians, professional societies, IT providers, consumer advocate groups and governmental bodies. A harmonized context will increase the value of laboratory results facilitating their interpretation and thus improving the patient's outcome.

e-mail: mauro.panteghini@unimi.it

PL2**Indikatori kvalitete u laboratorijskoj medicini**

Mario Plebani

Department of Laboratory Medicine, University Hospital of Padova, Padova, Italy

Definiranje, implementacija i praćenje specifikacija kvalitete za analitičku fazu bile su temelj za unaprjeđenje kvalitete laboratorijske usluge i smanjenja analitičkih pogrešaka. Izraženo smanjenje postotka analitičkih pogrešaka koje je vidljivo posljednjeg desetljeća može se objasniti ne samo unaprjeđenjem automatizacije procesa, standardizacijom metoda i edukacijom laboratorijskog osoblja već i praćenjem indikatora kvalitete i postavljanja kriterija izvedbe.

Međutim, nebrojeni su dokazi koji upućuju na važnost postupaka izvananalitičke faze, prije svega prijeanalitičke faze, njihovu podložnost pogreškama kao i njihov utjecaj na kvalitetu cjelokupnog laboratorijskog procesa. Posljednja saznanja upućuju na činjenicu da prijeanalitičke pogreške čine 70% svih laboratorijskih pogrešaka. U poslijeanalitičkoj fazi, pogreške zbog kašnjenja laboratorijskog nalaza kao i interpretacije i korištenja rezultata laboratorijske analize, opisane su na razini primarne zdravstvene zaštite, interne medicine i hitne medicine. Upravo zbog toga potrebno je primijeniti pristup s pacijentom u središtu interesa kako bi se bilježila i unaprjeđivala kvaliteta svih koraka u ukupnom procesu testiranja (engl. *total testing process*, TTP) s ciljem osiguranja sigurnosti pacijenta i optimalnih kliničkih ishoda. Identifikacija i uspostava indikatora kvalitete predstavlja obećavajuću strategiju za prikupljanje podataka o kvaliteti ukupnog procesa testiranja (TTP), a poglavito za utvrđivanje pogrešaka u pojedinim koracima prijeanalitičke faze temeljem kojih je moguće uspostaviti projekte unaprjeđenja kvalitete. Harmonizacija indikatora kvalitete u smislu usuglašenog popisa indikatora kvalitete koju je razvila Radna grupa za laboratorijske pogreške i sigurnost pacijenata (LEPS-WG) koja djeluje u okviru Međunarodne federacije za kliničku kemiju i laboratorijsku medicinu (IFCC) predstavlja osnovu za buduće djelovanje: identifikaciju dostižnih i realnih ciljeva temeljenih na posljednjim saznanjima iz struke. Podatci prikupljeni iz nekoliko kliničkih laboratorija širom svijeta omo-

PL2**State of the art of laboratory quality indicators**

Mario Plebani

Department of Laboratory Medicine, University Hospital of Padova, Padova, Italy

The definition, implementation and monitoring of valuable analytical quality specifications have played a fundamental role in improving the quality of laboratory services and reducing the rates of analytical errors. The dramatic reduction of analytical errors experienced in the last decades, in fact, can be explained not only by improvements in automation, method standardization and training of the laboratory staff but, also, by the adoption of valuable quality indicators and performance criteria.

However, a body of evidence has been accumulated on the relevance of the extra-analytical phases, namely the pre-analytical steps, their vulnerability and impact on the overall quality of the laboratory information. The state-of-the-art highlights the evidence that pre-analytical errors account for around 70% of laboratory mistakes. In the post-analytical phase, errors due to delay in acknowledging laboratory information, as well as in the interpretation and utilization of laboratory results have been described in primary care, internal medicine and emergency departments. Therefore, there is the need of a patient-centred approach to measuring and improving the quality of all steps of the total testing process (TTP) to ultimately assure patient safety and optimal clinical outcomes. The identification and establishment of valuable quality indicators (QIs) represents a promising strategy for collecting data on quality in the TTP and, particularly, for detecting any mistakes made in the individual steps of the pre-analytical phase, thus providing useful information for quality improvement projects. The consensus achieved on the developed list of harmonized QIs developed by the Laboratory Errors and Patient Safety Working Group (LEPS-WG) of the International federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC) represented a premise for the further step: the identification of achievable and realistic performance targets based on the knowledge of the state-of-the-art. Data collected by several clinical labo-

gućit će klasifikaciju kriterija izvedbe za trenutno postojeće indikatore kvalitete na tri razine: optimalna, poželjna i minimalna izvedba, a u skladu sa općeprihvaćenim specifikacijama kvalitete za analitičku fazu. Daljnji koraci ovog projekta su uključivanje i aktivno sudjelovanje velikog broja kliničkih laboratorija na međunarodnoj razini kako bi se prikupilo što više podataka o korisnosti i praktičnosti trenutno postojećih indikatora kvalitete i pripadajućih specifikacija kvalitete. Temeljem prikupljenih rezultata izradit će se revizija i nadogradnja popisa harmoniziranih indikatora kvalitete.

e-adresa: mario.plebani@unipd.it

PL3

Značaj biološke varijabilnosti

Anna Carobene

Standardization laboratory, Laboratory Medicine Department,
San Raphael hospital, Milan, Italy

Podatci o biološkoj varijabilnosti (BV), kada su ispravno definirani, imaju mnogostruku korisnu i važnu primjenu. Stockholmska konferencija dodijelila je BV drugo mjesto u hijerarhiji, ali zbog praktičnih razloga podatci o intra- i inter-individualnoj BV postali su glavno oruđe u postavljanju analitičkih ciljeva kvalitete. Štoviše, oni omogućuju procjenu značajnosti promjena kod pojedinca dobivenih serijskim mjerenjima i mogu se koristiti za izračun indeksa individualnosti (II) kako bi se procijenila vrijednost konvencionalnih referentnih intervala.

Podatci o BV dostupni u bazi podataka na Westgardovoj internetskoj stranici (<http://www.westgard.com/biodatabase1.htm>) danas se koriste i citiraju kao važan izvor u kliničkoj primjeni.

Ipak, neka ograničenja ovih podataka identificirana su u nedavno objavljenim preglednim člancima te su predstavljena na 1. strateškoj konferenciji Europske federacije za kliničku kemiju i laboratorijsku medicinu (EFLM). Ova konferencija, održana u Milanu u studenom 2014., pod nazivom „Definiranje ciljeva analitičke učinkovitosti 15 godina nakon Stockholmske konferencije“ imala je primarni cilj istražiti da li je hijerarhija postavljena „dogovornim konsenzusom“ na

ratories worldwide should allow the classification of performances for available QIs into three levels: optimum, desirable and minimum, in agreement with the widely accepted proposal for analytical quality specifications. Further steps in the project are the enrolment and active participation of a huge number of clinical laboratories at an international level to provide more data on the usefulness and practicability of current QIs and related quality specifications and the possible revision/update of the QIs list on the basis of data collected.

e-mail: mario.plebani@unipd.it

PL3

Biological variation remains relevant

Anna Carobene

Standardization laboratory, Laboratory Medicine Department,
San Raphael hospital, Milan, Italy

Biological variation (BV) data, if correctly defined, have many useful and important applications. The Stockholm conference assigned to BV the second rank in the hierarchy, but for practical reasons intra- and inter-individual BV data became the main tool for setting analytical quality specification. Moreover it enables the assessment of the significance of changes in serial measurements observed within a subject and it, can be used to derive an index of individuality (II) to assess the utility of conventional population-based reference intervals.

BV data, available in a database held in Westgard website (<http://www.westgard.com/biodatabase1.htm>), is now widely used and referenced as an important source for clinical application.

Some limitations of this data, however, have been identified in recent published reviews and were presented during the 1st strategic conference of European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (EFLM). This conference, held in Milano on November 2014, entitled “Defining analytical performance specifications 15 years after the Stockholm conference” had the primary aim to investigate if the hierarchy established by the “consensus agree-

Stockholmskoj konferenciji važeća i nakon 15 godina ili je treba mijenjati.

U Milanu je prethodna hijerarhija za postavljanje ciljeva analitičke učinkovitosti pojednostavljena u tri modela, a onaj koji se temelji na biološkoj varijabilnosti, s nekim prepoznatim ograničenjima, još uvijek ostaje na drugom mjestu.

Teorija BV je važeća, ali da bi se mogla uspješno primjenjivati potrebni su čvrsti eksperimentalni podaci. Pažljivom procjenom podataka koji su trenutno dostupni uočene suvelike razlike u objavljenim podacima koji pokazuju veliku heterogenost, ali često bez jasnog obrazloženja.

Uzroci tih razlika mogu biti metodološki povezani s dobivanjem podataka ili istinska varijabilnost povezana s različitim populacijama koje su istraživane.

Ako se isključi nekoliko uobičajenih analiza, trenutno dostupni podaci o BV dobiveni su iz ograničenog broja znanstvenih radova, ponekad s neodgovarajućom znanstvenom podlogom (nedostatan broj ispitanika, broj uzorkovanja po ispitaniku, mjerenja koja su izvršena zastarjelim metodama, uzorci sa samo jednim mjerenjem, nedostatna statistička analiza itd.) Unatoč lošoj pouzdanosti dijela podataka o BV, 1. strateška konferencija potvrdila je važnost baze podataka o BV, pod uvjetom da uključuje samo istraživanja koja su u skladu s kontrolnom listom (engl. *checklist*) za kritičku procjenu koju su predložili Bartlett i sur. kako bi se omogućila standardizirana procjena radova o BV. Da bi se ostvario taj cilj nakon strateške konferencije osnovane su Radne i Završne grupe za biološku varijabilnost (engl. *Task and Finish Groups on biological variation database, TFG*).

Radna grupa za biološku varijabilnost EFLM-a također radi na obnavljanju dostupne BV baze podataka kroz multicentrični projekt nazvan „Prikupljanje uzoraka zdravih dobrovoljaca za dopunu podataka o biološkoj varijabilnosti“ (engl. *Samples collection from healthy volunteers for biological variation values update*). Projekt je osmišljen na način koji osigurava minimalan utjecaj predanalitičkih varijabli (prikupljanje, rukovanje i čuvanje uzoraka) koje mogu negativno utjecati na rezultat, harmonizaciju postupaka vezanih uz izbor istraživane populacije, dobivanje rezultata metodama koje su trenutno u uporabi i obnavljanje BV baze podataka vrijednostima dobivenim odgovarajućom statističkom analizom, a u skladu s protokolom koji su definirali Fraser i Harry.

e-adresa: carobene.anna@hsr.it

ment” of the Stockholm Conference was still valid 15 years later or if it should be modified.

In Milano the previous hierarchy to set analytical performance specification has been simplified in three models, and the one based on components of biological variation, also if with some recognized limitations, still remains in the second place.

The theory of BV is valid, but, to be successfully applied, it needs robust experimental data. A careful evaluation of those presently available put in evidence large differences in published data, showing a great heterogeneity among them, very often not clearly justified.

Causal factors responsible for these differences may include methodological issues associated with the data production or true variability associated with the different populations studied.

With the exception of few common analytes, the current available BV values come from a limited number of scientific publications, and sometimes were obtained with an inadequate scientific design (insufficient number of subjects, of samplings per subject, measurements performed with obsolete methods, samples measured in single, insufficient statistical analysis, etc.).

Despite the poor reliability of part of the BV information, the 1st strategic conference has confirmed the importance of a BV database, provided that it includes only studies that comply with the critical appraisal check list proposed by Bartlett et al. to enable standardized assessment of papers on BV. A “Task and Finish Groups (TFG) on biological variation database” was been created after the strategic conference, to pursue this purpose.

The Biological variation working group of EFLM is also working to update the current available BV data through a multicenter project named “Samples collection from healthy volunteers for biological variation values update”. The project has been designed in order to guarantee the containment of the pre-analytical variables (collection, handling and sample storage) that can negatively impact on results, to harmonize the procedures concerning the population selection, to obtain results by analytical methods currently used, and to update BV database with values obtained by an adequate statistical analysis, complying with the protocol defined by Fraser and Harry.

e-mail: carobene.anna@hsr.it

S1 - Laboratorijska dijagnostika tumora

S1-1

Tumorski biljezi u laboratorijskoj dijagnostici

Rafael Molina

Oncobiology Unit, Hospital Clinic, University of Barcelona, Barcelona, Spain

U kliničkoj praksi tumorski biljezi (TB) se koriste već više od 50 godina. Međutim, osim specifičnih slučajeva poput karcinoma testisa, trofoblastičnih tumora i kolorektalnog karcinoma, u većini dostupnih smjernica nije istaknuta njihova klinička značajnost. Glavna poteškoća prilikom interpretacije nalaza tumorskih biljega je razlikovati benigne od malignih bolesti. Kako bi se umanjili navedeni problemi u interpretaciji nalaza, za procjenu koristimo tri kriterija: (1) serumske koncentracije tumorskih biljega. Lažno pozitivni nalaz TB najčešće je blago do umjereno povišen. Visoke koncentracije TB predstavljaju veću vjerojatnost za malignitet (rizik). Neke serumske koncentracije TB s velikom vjerojatnošću (99%) upućuju na malignitet. (2) Isključiti ili uzeti u obzir benigne bolesti. Lažno pozitivni nalaz TB najčešće je povezan s kataboličkim stanjima ili ozljedama tkiva bogatih tim biljegom. Bubrežno zatajenje ili jetrene bolesti najčešće su ne-maligne bolesti povezane s lažno povećanim nalazom TB. Međutim, većina TB samo je blago povišena, a vrlo rijetko 2-4 puta premašuje uobičajene granične vrijednosti. Neki TB mogu se javiti u vrlo visokim koncentracijama kada je teško razlikovati benigne bolesti od karcinoma, poput SCC, S-100 ili HE4 u slučaju bubrežnog zatajenja ili CA 19-9 kod žutice. Dvije su mogućnosti za izbjegavanje pogrešne interpretacije nalaza ovih TB, definirati drugu razinu granične vrijednosti kod specifičnih bolesti ili ne mjeriti TB u takvim slučajevima. Primjer su pacijenti s bubrežnim zatajenjem ili pacijenti sa sistemskim kožnim bolestima, gdje se serumske koncentracije SCC ne mogu razlikovati od koncentracija karakterističnih za karcinom. (3) Serijsko određivanje TB. Serijsko mjerenje je najvažniji kriterij za razlikovanje benignih od malignih bolesti posebno kod onih pacijenata s povišenim vrijednostima koje ne ukazuju jasno na karcinom. U slučaju sumnjivog nalaza, mje-

S1 - Tumor diagnostics

S1-1

Tumor markers in laboratory practice – state of the art

Rafael Molina

Oncobiology Unit, Hospital Clinic, University of Barcelona, Barcelona, Spain

Tumor markers (TM) have been used for more than fifty years in clinical practice. However a excluding some special situations as for example testicular cancer, trophoblastic tumors, or colorectal cancer, their clinical utility is not well accepted in the majority of guidelines. The main difficulty is to interpret the tumor marker results, mainly to distinguish between benign or malignant origin. To minimize the problems previously indicated with tumor markers we use 3 criteria: (1) Serum levels of Tumor markers. TM false positive results are habitually slightly or moderate. Higher concentrations of TMs indicate higher probability of malignancy (risk). There are some TM serum levels that suggest cancer with high probability (99%). (2) Exclude or take in account benign diseases. TM false positive results are habitually related to the catabolism or with injuries in tissues rich in these TMs. Renal failure and liver diseases are the most frequent non-malignant disease associated to false positive results. However the majority of tumor markers had only slightly high serum levels in these diseases, that rarely arrive to 2-4 times higher than the habitual cut-off. However, some tumor markers had very high concentrations being difficult to distinguish benign from cancer as SCC, S-100 or HE4 in renal failure or CA 19-9 in jaundice. To avoid false interpretations with this TMs there are two options, first to look for a second cut-off in these diseases, or do not use the TM in these situations. This is the case with SCC in patients with renal failure or in patients with systemic dermatological diseases with serum levels indistinguishable of those levels found in cancer. (3) Serial tumor marker evaluation. Serial determination is the most important criteria to distinguish between benign or malignant diseases, mainly in those patients with abnormal values but not clearly indicating cancer. In patients with doubts, TM

renje TB se može ponoviti za 3 do 4 tjedna te ukoliko se zabilježi porast koncentracije TB (>25%) u području povišenih vrijednosti može se pretpostaviti visoka vjerojatnost za malignitet. U slučaju kada se ponovljenim mjerenjem dobije slična vrijednost ili niža tada je vjerojatnost za malignitet niska.

e-adresa: RMOLINA@clinic.cat

S1-2

Prostata specifični antigen (PSA) – negacijski stav

Prečesto koristimo PSA test

Ante Reljić

Klinika za urologiju, Klinički bolnički centar Sestre milosrdnice, Zagreb, Hrvatska

PSA je test kojeg urolozi u Hrvatskoj koriste redovito u kliničkoj praksi unazad 20 godina dogmatski - jednom godišnje u svih muškaraca starijih od 50 godina. Slijedili smo principe rane dijagnostike što nije istoznačno sustavnom probiru (screening). Čak i primjena metoda probira nalazi potporu u samo jednoj studiji (ERSPC-European Randomised Study for Screening of Prostate Cancer) koja pokazuje smanjenje mortaliteta za 21% tijekom 11 godina praćenja.

Pa ipak, primjena metoda rane dijagnostike PSA testom postigla je dva efekta: Prvi, imamo znatno manje bolesnika s metastatskim, neizlječivim rakom prostate i drugi, drastično se povećao broj kurativnih formi liječenja – radikalna prostatektomija odnosno radikalna radioterapija. I jedan i drugi učinak ostavljaju privid značajno boljeg dijagnostičkog i terapijskog djelovanja, ali epidemiološki podaci to ne podupiru. U Hrvatskoj, kao i u većini zemalja koje su ekstenzivno i nekritično koristile PSA testiranje, incidencija raka prostate je značajno narasla dok se mortalitet ne smanjuje. Upravo takvi su epidemiološki pokazatelji i u nas.

Tako dolazimo do tri obilježja naše dosadašnje prakse: a) prekomjerna, nekritična i iracionalna upotreba PSA testa („overutilization“ of PSA), b) pretjerana dijagnostika karcinoma niskog rizika čije liječenje ne utječe na specifični mortalitet („overdiagnosis“) i c)

may be repeated in 3 or 4 weeks, if there are increasing levels (>25%) in the abnormal range will suggest with high probability malignancy. By contrast patients with similar concentrations or lower had a low probability of cancer.

e-mail: RMOLINA@clinic.cat

S1-2

Prostate specific antigen (PSA) – negative viewpoint

Overutilization of the PSA test

Ante Reljić

Department of Urology, University Hospital Centre Sestre milosrdnice, Zagreb, Croatia

PSA is a test which is, in the past 20 years, performed by Croatian urologists in the clinical practice almost dogmatically – once a year on all men older than 50 years. We followed the principles of early diagnosis which is not synonymous to systematic screening, and even using the screening method is supported in only one study (ERSPC-European Randomised Study for Screening of Prostate Cancer) which indicated lower mortality rates by 21% during 11 years.

However, applying the PSA test as a method of early diagnosis has shown effects in two ways. The first one is significantly less patients with metastatic, incurable prostate cancer and the other one, drastically increased number of curative forms of treatments – radical prostatectomy or radical radiotherapy. Both effects leave a certain impression of improved diagnostic and therapeutic activity, but epidemiological data does not support that fact. In Croatia, like in the most of the countries which have used PSA test method extensively and uncritically, the incidence of prostate cancer is significantly increased while the mortality rate is not reduced. Precisely such epidemiological indicators are present in our country.

So, we could now point out three characteristics of our current practice: a) excessive, uncritical and irrational use of the PSA test („overutilization“ of PSA),

što je posljedično neizbježno, prečesto radikalno liječenje tih istih bolesnika („overtreatment“). Drugim riječima – previše poduzimamo, a premalo postizemo. Prije masovnog PSA testiranja omjer incidencije i mortaliteta je bio 2:1 dok je danas 7,5:1, a rizik smrti od raka prostate je i dalje 3% tijekom života. Ovo vrlo dobro ilustrira razmjere pojmova „overdiagnosis“ i „overtreatment“. Vjerujem da je ključ rješenja ponajprije u racionalnom smanjenju učestalosti PSA testiranja. Naša potraga za bolesnicima s visoko-rizičnim rakom prostate ne treba biti tako masovna nego više fokusirana i racionalna. U tom smjeru se kreću i nedavne AUA (American Urological Association), EAU (European Urological Association) smjernice te zaključci USPSTF (U.S. Preventive Services Task Force). Zahvaljujući analizama Lilje i Vickersa moguće je racionalizirati upotrebu PSA testa prema stratifikaciji rizika, a temeljem određivanja tzv. bazalnog PSA u dobi od 45-49 godina. Ovisno o toj bazalnoj vrijednosti determinira se daljnja učestalost testiranja. Samo oko 10% ispitanika te dobi predstavlja skupinu visokog rizika od metastaza odnosno smrti zbog raka prostate. To je populacija koju treba vrlo pomno nadzirati redovitim PSA testiranjem. U preostale većine se PSA test može vrlo sigurno indicirati u znatno rjeđim intervalima. Prema navedenim izvorima, za barem polovicu muškaraca, dovoljna su tri PSA testa u životu i to u kasnim 40-tim, ranim 50-tim i sa 60 godina starosti. U dobi iznad 70 godina PSA test gubi svoje značenje.

Ako je prvih 20 godina sustavnog testiranja po principu „PSA jednom godišnje“ rezultiralo povećanjem incidencije bez značajnijeg pada mortaliteta, neophodno je adaptirati model PSA testiranja na racionalnijim temeljima. Bez toga ne možemo očekivati smanjenje suvišne detekcije („overdiagnosis“) niti komplikacija nepotrebno čestog liječenja („overtreatment“). Krajnji cilj sustavne i racionalne rane dijagnostike je smanjiti smrtnost od raka prostate za barem 30% i istodobno smanjiti „overdiagnosis“ i „overtreatment“ na minimum.

e-adresa: reljic.ante@gmail.com

b) excessive diagnosis of the low-risk cancer, whose treatment does not affect the specific mortality (“overdiagnosis”) and as consequently inevitable, c) too frequent radical treatment of those same patients (“overtreatment”). In other words – we undertake too much, and not enough is achieved. Prior to mass performing of the PSA test, incidence and mortality rates were 2:1, whereas today they are 7.5:1 and the risk of death from prostate cancer is still 3% over a lifetime. This very well illustrates the extent of the terms “overdiagnosis” and “overtreatment”. I believe that the key to the solution is rational reduction of the frequency of PSA testing. Our search for patients with a high-risk prostate cancer should not be so massive, but more focused and rational. Recent AUA (American Urological Association), EAU (European Urological Association) guidelines and the conclusions of the USPSTF (US Preventive Services Task Force) confirm such viewpoints.

Thanks to the analysis by Lilja and Vickers it is possible to rationalize the use of the PSA test according to the risk stratification based on the determination of the so-called basal PSA in the age of 45-49. The frequency of the further testing can be determined depending on that basal value. Only about 10% of the group that age represent a high-risk candidate for metastasis or death due to the prostate cancer. It is a population that needs to be very closely monitored by regular PSA testing. With the remaining majority, PSA test can definitely be indicated in much rarer intervals. According to the abovementioned sources, for at least half of the men it only takes three PSA tests in a lifetime - in the late 40's, early 50's and when turned 60 years of age. At the age over 70 PSA test loses its significance.

If first 20 years of systematic testing on a “PSA-once-a-year” principle resulted in increased incidence without a significant decline in mortality, it is necessary to adapt the model of PSA testing on a more rational grounds. Without that we cannot expect to reduce redundant detection (overdiagnosis) or complications according to unnecessarily frequent treatment (overtreatment). The ultimate goal of systematic and rational early diagnosis is to reduce mortality from prostate cancer for at least 30% and at the same time to reduce the “overdiagnosis” and “overtreatment” to a minimum.

e-mail: reljic.ante@gmail.com

S1-3

Prostata specifični antigen (PSA) – afirmacijski stav

Igor Tomašković

Klinika za urologiju, Klinički bolnički centar Sestre milosrdnice, Zagreb, Hrvatska

Katedra za urologiju, Medicinski fakultet Sveučilišta J.J. Strossmayera u Osijeku, Osijek, Hrvatska

Testiranje putem serumskog prostata specifičnog antigena (PSA) unijelo je revoluciju u našu sposobnost dijagnosticiranja, liječenja, i praćenja učinka liječenja kod bolesnika s rakom prostate. Iako je jasno da PSA nije idealan marker te da čak nije specifičan za rak prostate jer ga mijenjaju i upala, benigna prostatična hiperplazija, ejakulacija, mehanička manipulacija i instrumentacija donjeg urotakta te neki lijekovi, ovaj se marker i dalje rabi baš kao tumorski marker. Uporabom PSA od sredine 90-ih godina prošlog stoljeća, dolazi do otkrivanja velikog broja karcinoma prostate pa je prisutan značajan porast incidencije ove bolesti. Povoljni rezultati široke uporabe PSA u svrhu ranog otkrivanja raka prostate uključuju veći broj bolesnika s lokaliziranom bolešću i povećanje broja dobro diferenciranih tumora. Navedeni učinak omogućio je i bolje liječenje bolesnika, osobito radikalnom kirurgijom koja je primarno i indicirana kod lokalizirane bolesti. Time je veći broj bolesnika dobio priliku za kurativni, a ne paliativni tretman. Nadalje, primjena PSA i dalje je temelj praćenja učinka liječenja bez obzira je li bolesnik podvrgnut kirurškom liječenju, zračenju ili hormonalnoj terapiji te je to još jedna, nedvojbeno korist ovog markera.

Trendovi mortaliteta od raka prostate zabilježeni u Sjedinjenim američkim državama (Nacionalni institut za rak) pokazuju stabilan pad od 3,4% godišnje u periodu od 2001. do 2011. godine. Smanjenje smrtnosti od 40% u periodu od 1992. godine do danas u SAD moguća je posljedica ranijeg otkrivanja i/ili boljeg liječenja ove bolesti.

Pitanjem dobrobiti od masovne uporabe PSA u svrhu ranog otkrivanja raka prostate koja mjestimice doseže razmjere probira (screeninga), bavile su se dvije randomizirane, prospektivne studije: European randomized study for prostate cancer (ERSPC) te Prostate, Lung, Colorectal and Ovary trial (PLCO). Dok je ERSPC pokazala redukciju mortaliteta za 27%

S1-3

Prostate specific antigen – affirmative viewpoint

Igor Tomašković

Department of Urology, University Hospital Centre Sestre milosrdnice, Zagreb, Croatia

Department of Urology, Faculty of Medicine, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Osijek, Croatia

Testing by serum prostate specific antigen (PSA) has revolutionized our ability to diagnose, treat, and monitor treatment outcomes in patients with prostate cancer. While it is clear that PSA is not a perfect marker and even not specific to prostate cancer since it changes with inflammation, benign prostatic hyperplasia, ejaculation, mechanical manipulation and instrumentation of the lower urinary tract and some drugs, this marker is still used just as a tumor marker. Use of the PSA since the mid-90s of the last century, resulted in a detection of a large number of prostate cancer patients and a significant increase in the incidence of this disease. Favourable results of the widespread use of PSA for the early detection of prostate cancer include a larger number of patients with localized disease and increased number of well-differentiated tumors. The above effects facilitate better treatment of patients, especially with radical surgery that is primarily indicated in the localized disease. This has given the opportunity to greater number of patients for curative rather than palliative treatment. Furthermore, the use of the PSA is still the basis for monitoring the effect of treatment regardless of whether the patient underwent surgical treatment, radiation or hormonal therapy, and it is another, undeniable benefit of this marker.

Trends in the mortality from prostate cancer reported in the United States (National Cancer Institute) showed a steady decline of 3.4% annually in the period from 2001. to 2011. Reduction in mortality of 40% in the period from 1992 till today in the US is a possible consequence of early detection and / or a better treatment of this disease.

Two randomized, prospective studies dealt with the issue of the benefit of mass use of PSA for the early detection of prostate cancer, which in places is reaching screening proportions (mass screening): European randomized study for prostate cancer (ER-

(0,73; 0,61-0,88; $P < 0,0007$), studija PLCO nije uspjela pokazati korist od probira. Prigovor PLCO studiji je velika stopa kontaminacije PSA testiranjem u kontrolnoj skupini (52%), te poštovanje protokola kod svega 86% ispitanika i manje od 50% muškaraca podvrgnutih biopsiji u screening skupini.

Unatoč mogućoj redukciji mortaliteta probirom putem PSA cijena ovog postupka nije mala: zadnji rezultati praćenja nakon 13 godina u ERSPC pokazuju da je potrebno pozvati 781 muškarca u program screeninga te liječiti 27 da bi se izbjegla 1 smrt od raka prostate. Smatra se da je stopa pretjeranog dijagnosticiranja („overdiagnosis“) oko 50% i to predstavlja glavni štetni učinak probira. Zbog toga vodeće urološke organizacije među kojima i Europsko urološko udruženje preporučuju programe ranog otkrivanja raka prostate, ali ne i probira putem PSA. Zbog rizika od pretjeranog dijagnosticiranja indolentne bolesti i posljedičnog pretjeranog liječenja te njegova utjecaja na kvalitetu života potrebno je preispitivanje dosadašnjih preporuka uporabe PSA, ali ne i odbacivanje dobiti koje ono donosi.

Uvođenjem koncepta bazalnog PSA, određivanjem frekvencije testiranja prema stupnju rizika te izbjegavanjem aktivnog liječenja indolentne bolesti (aktivni nadzor) mogu se značajno umanjiti negativni uz očuvanje pozitivnih efekata PSA testiranja.

e-adresa: igor.tomaskovic@kbcsm.hr

SPC) and the Prostate, Lung, Colorectal and Ovary trial (PLCO). While the ERSPC has shown a reduction in mortality of 27% (0.73, 0.61-0.88, $P < 0.0007$), PLCO study failed to show benefit from screening. Objections to PLCO study were high rate of contamination of PSA testing in the control group (52%), and compliance with the study protocol in only 86% of respondents and less than 50% of men with indication who underwent biopsy in the screening group.

Despite possible reduction of mortality with PSA screening, the price of this procedure is not small: last results after 13 years of follow up in the ERSPC showed that it is necessary to invite 781 men in the screening program and treat 27 to avoid one death from prostate cancer. It is believed that the excessive rate of unnecessary diagnosis („overdiagnosis“) is around 50% and it is the major adverse effect of screening. Therefore, leading urological organizations including the European Urology Association recommend programs for early detection of prostate cancer, but not mass PSA screening. Because of the risk of over-diagnosis of indolent disease and consequent excessive treatment and its effect on the quality of life, it is necessary to review previous recommendations of use of PSA, but not discard the benefits that it brings.

By introducing the concept of basal PSA, determining the frequency of testing according to the degree of risk and avoidance of active treatment of indolent disease (active surveillance) we can significantly reduce the negative while preserving the positive effects of PSA testing.

e-mail: igor.tomaskovic@kbcsm.hr

S2 – Koagulacija

S2-1

Zašto uvodimo nove oralne antikoagulantne lijekove?

Zdravka Poljaković

Zavod za intenzivno liječenje Klinike za neurologiju, Klinički bolnički centar Zagreb, Zagreb, Hrvatska

Antikoagulantna terapija u liječenju i prevenciji moždanog udara apsolutno je indicirana kod postojeće ili prijeteće ishemije mozga uzrokovane embolijom arterije. Prema danas dostupnim statističkim podacima, najmanje 20% svih ishemijskih moždanih udara kardioembolijske je etiologije. Daljnjih otprilike 30% su moždani udari nejasnog uzroka (kriptogeni) koji su međutim najčešće također embolijski. Navedenim postotcima, na kraju, treba dodati i sve oblike moždanih udara uzrokovane trombozom cerebralnih venskih sinusa, kod kojih je ta vrsta liječenja također indicirana. Stoga će u cilju primarne i sekundarne prevencije u više od polovice svih ishemijskih moždanih udara biti nužna antikoagulantna terapija.

Dosadašnji zlatni standard oralne antikoagulantne terapije bio je varfarin, lijek visoke učinkovitosti ali i nezanemarivih nuspojava. Statistički podaci govore o 20 puta nižem riziku za moždani udar (MU) kod bolesnika s fibrilacijom atriya (najčešćim uzrokom kardioembolijskog moždanog udara) zahvaljujući primjeni varfarina, ali jedino u slučaju postizanja adekvatne terapijske širine. S obzirom međutim na interindividualne razlike u farmakogenetici metaboliziranja varfarina, kao i straha od mogućih nuspojava, prema dostupnim epidemiološkim podacima, tek otprilike 50% bolesnika kod kojih je varfarin indiciran ga doista i uzima, a od njih je samo otprilike 60% u adekvatnoj terapijskoj širini. Dodatno, varfarin značajno povisuje rizik intrakranijskog i sistemnog krvarenja, iziskuje brojne i redovite kontrole koagulograma, te ima dokazane interakcije i s različitim prehrambenim artiklima, ali i drugom medikamentoznom terapijom.

Danas dostupni novi oralni antikoagulantni lijekovi (dabigatran, rivaroxaban i apixaban) imaju stabilnu farmakokinetiku i farmakodinamiku, pa kontrole laboratorijskih parametara nisu potrebne, uzimaju se u stalnim dozama, te sukladno rezultatima studija,

S2 – Coagulation

S2-1

Why do we need new oral anticoagulant drugs?

Zdravka Poljaković

Neurological Intensive Care Unit, University Hospital Centre Zagreb, Zagreb, Croatia

Anticoagulant therapy is a golden standard for treatment and prevention of embolic stroke. According to recent epidemiologic data, at least 20% of ischemic strokes are cardioembolic. Further 30% are so called "cryptogenic" strokes, meaning that they are of unknown cause, however, most of them are embolic as well. Finally, we should also add all ischemic strokes which developed due to cerebral sinus thrombosis, where anticoagulant therapy also should be used. Bearing all this in mind, in primary or secondary prevention of nearly half of all strokes, this kind of antithrombotic therapy is indicated.

Until recently, the first treatment choice for patients which had to take anticoagulant therapy was warfarin. Warfarin is indeed a highly effective drug, but with some serious disadvantages. Again, according to statistic data, after introducing warfarin therapy the risk of ischemic stroke became 20 times lower in patients with atrial fibrillation (which is the most frequent cause of cardioembolic stroke). However, only in patients who had warfarin in a narrow therapeutic dose dependent range. Nevertheless, considering interindividual metabolic differences in warfarin pharmacogenetics and metabolism, as well as known fear from adverse events, only about 50% of all patients who have indication for warfarin really take the medication, and of them, only 60% are in needed therapeutic range. Furthermore, warfarin significantly increases the risk of intracerebral and gastrointestinal bleeding, requires frequent and regular laboratory check-ups and has proven interactions with other drugs and food.

New oral anticoagulant drugs (NOACs) which came to market recently (dabigatran, rivaroxaban and apixaban) have some different characteristics, on the first place stable pharmacokinetics and pharmacodynamics. Therefore, there is no need for laboratory check-ups, they can be taken continuously in

uz jednaku učinkovitost imaju značajno manji rizik nuspojava (prvenstveno sistemnih krvarenja i krvarenja CNSa), te znatno manje interakcija i s lijekovima i s hranom. Prema europskim i američkim smjernicama, oni su danas prvi lijek izbora u ovoj indikaciji. S obzirom međutim, na još brojne nepoznanice te nedovoljno iskustvo s ovom skupinom lijekova, novije studije usmjerene su prema ostalim indikacijskim područjima u sklopu prevencije embolijskih moždanih udara, proučavanju farmakokinetike i antikoagulatnog učinka tih lijekova, pronalaženju antidota kao i specifičnosti primjene u pojedinim ciljnim skupinama bolesnika, odnosno specifičnim situacijama kao što je trombolitička terapija ili primjena nakon intrakranijskih krvarenja.

e-adresa: zdravka.po@gmail.com

the same dose, having, according to clinical studies and experience, same effectiveness and significantly less risk for adverse events (on the first place for intracranial and systemic bleeding) than warfarin. They also have significantly less interactions with other drugs and food. According to European and American guidelines, they became the drug of the first choice for prevention of cardioembolic stroke in patients with non-valvular atrial fibrillation. However, we still do not have a long-time experience in using NOACs, and those drugs still have some unrevealed facts. Due to this, there are, at the moment, a lot of clinical trials focusing to the use of NOACs in some other indications (prevention of embolic stroke of some other origin), studying their pharmacokinetics and anticoagulant effect, finding the antidote and discovering their characteristics and risk in some special populations or special situations (like thrombolytic therapy or use after intracranial bleeding).

e-mail: zdravka.po@gmail.com

S2-2

Laboratorijski pristup antikoagulantnim lijekovima

Andreas Hillarp

Department of Clinical Chemistry and Transfusion Medicine, Halland Hospital, Halmstad, Sweden

Uvod: Oralni antikoagulanti neovisni o vitaminu K (eng. non-vitamin K dependent oral anticoagulants – NOAC) predstavljaju novu generaciju lijekova koji su postali dostupni unazad nekoliko godina, a koji se koriste u svrhu liječenja i profilakse tromboembolijskih bolesti. Radi se o direktnim inhibitorima trombina (dabigatran) ili faktora koagulacije Xa (rivaroksaban ili apiksaban) koji su alternativa antagonistima vitamina K. Laboratorijsko praćenje terapije u slučajevima njihove primjene je moguće, ali nije nužno. Međutim, pokazalo se da njihova primjena i prisustvo u plazmi bolesnika interferira kod određivanja standardnih koagulacijskih testova pa poznavanje njihovog utjecaja ima kliničku značajnost.

S2-2

Laboratory aspects on anticoagulant drugs

Andreas Hillarp

Department of Clinical Chemistry and Transfusion Medicine, Halland Hospital, Halmstad, Sweden

Introduction: A new generation of drugs for treatment and prophylaxis of thromboembolic disorders, known as Non-vitamin K dependent oral anticoagulants (NOAC), have been introduced in recent years. These provide direct inhibition of either thrombin (dabigatran) or factor Xa (rivaroxaban or apixaban) and offer an alternative to the traditional vitamin K antagonists for many indications. Laboratory monitoring is possible but not necessary however, NOACs interfere with many common coagulation assays and knowledge of these effects may be clinically valuable.

Materials and Methods: In order to systematically evaluate the interfering effects of NOACs plasma

Materijali i metode: Kako bi se sistematski evaluirali interferirajući učinci nove generacije antikoagulacijskih lijekova uzorku plazme 10 zdravih dobrovoljaca dodani su dabigatran, rivaroksaban i apiksaban u koncentracijskom rasponu 0 – 1000 µg/L. U tako priređenim uzorcima primjenom različitih reagensa određeno je aktivirano tromboplastinsko vrijeme (APTV), protrombinsko vrijeme (PV), fibrinogen, antitrombin, rezistencija na aktivirani protein C, lupus antikoagulant, protein C i protein S. Za određivanje koncentracije primijenjenog lijeka korištena je specifična metoda temeljena na inhibiciji trombina ili faktora FXa.

Rezultati: Svi lijekovi uključeni u ispitivanje pokazali su linearan odnos doze i odgovora na terapiju koja je procijenjena na temelju APTV-a. Dabigatran je pokazao nešto veći učinak u odnosu na rivaroksaban. Na očekivanoj vršnoj koncentraciji dabigatrana (200 µg/L) izmjereni APTV bio je uvijek iznad gornje granice referentnog intervala bez obzira na korišteni tip reagensa. Učinak rivaroksabana je u usporedbi s učinkom dabigatrana bio slabiji, ali kod većine uzoraka APTV je na vršnim koncentracijama bio produžen. Apiksaban je pokazao slabi učinak i na vršnoj koncentraciji (200 µg/L), kod gotovo svih uzoraka, dobiveni su rezultati unutar referentnog intervala. Slični učinci dobiveni su i kod mjerenja PV-a, ali kod rivaroksabana dobiven je linearan odnos doze i odgovora usprkos definiranim razlikama u osjetljivosti između korištenih reagensa za PV. Apiksaban je imao slabiji učinak na PV i nekoliko uzoraka kod koncentracije 200 µg/L razlikovalo se od uzoraka u kojima apiksaban nije bio prisutan. Kod ostalih koagulacijskih testova dobiveni su predviđeni učinci. Primjena dabigatrana pokazala je učinak na testove kojima se obuhvaća mjerenje aktivnosti trombina, dok su rivaroksaban i apiksaban pokazali učinke na testovima koji obuhvaćaju mjerenje aktivnosti FXa. Funkcionalni testovi za određivanje rezistencije na aktivirani protein C, proteina C i proteina S ne mogu se provoditi tijekom terapije sa oralnim antikoagulantima neovisnim o vitaminu K jer ovi lijekovi imaju snažan utjecaj na njihovo određivanje.

Zaključak: Inhibitor trombina dabigatran i inhibitor FXa rivaroksaban kod terapijske koncentracije utječu na većinu koagulacijskih testova. Međutim, apiksaban ima slabiji učinak na APTV i PV u odnosu na druga dva antikoagulantna. Sva tri antikoagulantna utječu na mnoge testove koji se primjenjuju u laboratorijskoj dijagnostici venske tromboze pa nije preporuč-

from 10 healthy individuals were spiked with dabigatran, rivaroxaban or apixaban in the concentration range 0 – 1000 µg/L and analysed using different reagents for activated thromboplastin time (APTT), prothrombin time (PT), fibrinogen, antithrombin, activated protein C resistance, lupus anticoagulants, protein C and protein S assays. In order to measure the drug concentration we evaluated drug-specific assays, based on inhibition of thrombin or factor Xa.

Results: All NOACs display a curve-linear dose-response with APTT where dabigatran had a slightly greater effect compared to rivaroxaban. At an expected peak concentration (200 µg/L) of dabigatran the measured APTT was invariably above the upper reference range for all tested APTT reagents. The effect of rivaroxaban was slightly less compared to dabigatran but most samples resulted in abnormal APTT at peak concentration. Apixaban had weak effects and at the simulated peak concentration (200 µg/L) almost all samples resulted in values within the normal reference ranges. Similar effects on the PT assays were also observed but rivaroxaban displayed a linear dose-response although there were marked differences in sensitivities between PT-reagents. Again, apixaban had weak effects on the PT-assays and few samples with 200 µg/L differed from samples without addition of apixaban. Other coagulation assays revealed more predictive effects. Thus, antithrombin assays based on thrombin were affected by dabigatran and assays based on Xa were affected by rivaroxaban and apixaban. Moreover, functional assays for APC resistance, protein C or S cannot be used during therapy with NOACs as these assay types are greatly influenced by the drugs.

Conclusion: The thrombin-inhibitor dabigatran and the Xa-inhibitor rivaroxaban will affect most coagulation assays at therapeutic drug concentrations. However, apixaban had surprisingly weak responses on the APTT and PT assays compared to the other two drugs. Many assays involved in a laboratory investigation of venous thrombosis are also affected by all three NOACs and it's not advisable to perform such an investigation during therapy. The reason for the observed *in vitro* difference between NOACs is not elucidated but makes it difficult to give generalizable recommendations about the effects on common coagulation assays. In cases when urgent and reliable measurement of NOACs is needed it's recommended to use drug-specific assays. Dabi-

ljivo njihovo određivanje za vrijeme terapije. Razlozi uočenih razlika u *in vitro* uvjetima između navedenih lijekova nisu u potpunosti razjašnjeni te onemogućuju donošenje generalnih preporuka o njihovim učincima na koagulacijske pretrage. U slučajevima kada je potrebna hitno i pouzdano određivanje koncentracije primijenjenog antikoagulanta preporuka je da se primjenjuje specifična metoda za određivanja lijeka. Dabigatran se može točno odrediti primjenom razrijeđenog trombinskog vremena ili primjenom metode koja se temelji na aktivaciji koagulacije ecarinom. Rivaroksaban i apiksaban mogu se mjeriti primjenom mjerenja direktne inhibicije FXa.

e-adresa: Andreas.Hillarp@regionhalland.se

S2-3

Mjerenje antikoagulacijskih učinaka novih oralnih antikoagulanata – primjena u praksi

Désirée Coen Herak

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

S kliničkom primjenom novih oralnih antikoagulanata (NOAKa) koagulacijski su se laboratoriji suočili s novim izazovima u pronalaženju metoda pogodnih za mjerenje njihovih antikoagulacijskih učinaka. Prema preporukama Znanstvenoga i standardizacijskog Pododbora za kontrolu antikoagulacijske terapije Međunarodnog društva za trombozu i hemostazu, metode za mjerenje antikoagulacijskih učinaka svakoga pojedinog NOAK-a načelno se mogu podijeliti u polukvantitativne i kvantitativne. Polukvantitativne pretrage, u koje ubrajamo standardne koagulacijske pretrage PV i APTV, omogućuju samo procjenu stupnja antikoagulacijskog djelovanja i namijenjene su isključivo za utvrđivanje poddoziranosti, odgo-varajuće doziranosti ili predoziranosti lijekom. Neke su pretrage zbog izrazite osjetljivosti, kao npr. TV, pogodne za isključivanje predoziranosti dabigatranom pa rezultati TV-a unutar referentnog intervala upućuju na koncentraciju dabigatrana u tragovima. Iako je u dosadašnjim ispitivanjima utvrđen antikoagulacijski učinak svakoga pojedinog NOAK-a na PV i APTV, uz veći utjecaj inhibitora trombina (dabiga-

gatan can accurately be determined with dilute thrombin time assays or assays based on ecarin-activation of coagulation. Rivaroxaban and apixaban can be measured with direct Xa-inhibition assays.

e-mail: Andreas.Hillarp@regionhalland.se

S2-3

Measuring the anticoagulant effect of new oral anticoagulants – practical aspects

Désirée Coen Herak

Department of Laboratory Diagnostics, University Hospital Centre Zagreb, Zagreb, Croatia

Implementation of new oral anticoagulants (NOACs) in clinical practice has presented new challenges for coagulation laboratories in finding appropriate laboratory methods for the measurement of their anticoagulant effects. Recently published recommendations from the ISTH SSC on Control of Anticoagulation propose two types of coagulation assays for each NOAC: semiquantitative and quantitative assays. Semiquantitative assays, such as PT and APTT, can only be used for estimation of the relative intensity of anticoagulation, and should be considered as indicators of supratherapeutic, therapeutic or subtherapeutic anticoagulation status. Furthermore, it has been confirmed that TT is suitable for exclusion of supratherapeutic dabigatran concentrations due to its strong sensitivity to dabigatran, so TT result within the reference interval indicate undetectable or very low level of dabigatran.

The anticoagulant effect of each NOAC on PT and APTT has been demonstrated in a number of studies. In general, thrombin inhibitors (dabigatran) exhibit

trana) na APTV, a inhibitora FXa (rivaroxabana, apixabana) na PV, opažena je znatna razlika u osjetljivosti pojedinih reagensa za mjerenje PV-a i APTV-a prema pojedinom NOAK-u. Stoga je preporučeno kako bi svaki laboratorij trebao ispitati osjetljivost lokalnog reagensa za APTV prema dabigatranu te osjetljivost lokalnog reagensa za PV prema rivaroxabanu i apixabanu uporabom NOAK-specifičnih kalibracijskih plazmi ili plazmi bolesnika koji uzimaju određeni NOAK.

Kvantitativno mjerenje koncentracije NOAK-a moguće je izravno LC-tandemskom spektrometrijom masa ili neizravno specifičnim koagulacijskim pretragama pomoću metoda koje se temelje na ciljnim mjestima i mehanizmima antikoagulacijskih djelovanja NOAK-a. Koagulacijske pretrage pogodne za kvantitativno mjerenje dabigatrana u plazmi su razrijeđeno TV, ekarinsko vrijeme zgrušavanja i ekarinski kromogeni test, koje se kalibriraju kalibracijskim plazmama dabigatrana. Za kvantitativno mjerenje rivaroxabana i apixabana preporuča se određivanje anti-Xa aktivnosti fotometrijskom metodom s kromogenim supstratom, kalibrirane kalibracijskim plazmama rivaroxabana i apixabana.

Antikoagulacijski učinak rivaroxabana na lokalne reagense za ispitivanje PV-a i APTV-a ispitan je *in vitro* analizom komercijalnih kalibracijskih plazmi za rivaroxaban (STA-Rivaroxaban Calibrator, Diagnostica Stago, Francuska) s koncentracijama 0, 100, 254 i 494 µg/L, te u uzorcima pool-a normalnih citratnih plazmi kojima je dodana rastuća koncentracija rivaroxabana (29, 121, 346 i 734 µg/L), koje odgovaraju minimalnim, vršnim i prekomjernim koncentracijama. Dobiveni rezultati upućuju na porast i PV omjera i APTV omjera razmjerno dozi rivaroxabana. PV omjer iznad gornje granice referentnog intervala zabilježen je kod koncentracije od 121 µg/L, a APTV omjer kod koncentracije od 100 µg/L.

Antikoagulacijski učinak rivaroxabana ispitan je i *ex vivo* u plazmama 21 bolesnika s nevalvularnom fibrilacijom atrija (klirens kreatinina >50 mL/min), na terapiji rivaroxabanom u dozi od 20 mg jednom dnevno. Koncentracije su izmjerene u uzorcima uzetim neposredno prije (minimalna koncentracija) te 3h nakon uzimanja lijeka (vršna koncentracija) određivanjem anti-Xa aktivnosti (Berichrom Heparin, Siemens, Njemačka) nakon kalibracije kalibracijskim plazmama rivaroxabana STA-Rivaroxaban Calibrator. U plazma bolesnika opažene su velike interindividualne

a more pronounced influence on APTT, while PT is more affected by FXa inhibitors (rivaroxaban, apixaban). However, as remarkable between-reagent variability has been observed, it has been proposed that every laboratory should explore the relative sensitivity of their local APTT reagent to dabigatran and local PT reagent to rivaroxaban and apixaban by using NOAC-specific calibrators or plasma samples from patients receiving a specific NOAC.

Quantitative measurement of NOAC concentrations can be performed either directly by LC-tandem mass spectrometry, or indirectly by using specific coagulation assays that are based on methods closely related to their anticoagulant targets and mechanism of action. The most suitable coagulation assays for the measurement of dabigatran concentrations are diluted TT, ecarin clotting time and ecarin chromogenic assay calibrated with dabigatran calibrators, whereas quantitative measurement of rivaroxaban and apixaban concentrations should be performed by a chromogenic anti-Xa assay calibrated with specific rivaroxaban or apixaban calibrators.

In vitro anticoagulant effect of rivaroxaban on local PT and APTT reagents was investigated by analyzing commercial rivaroxaban calibrators (STA-Rivaroxaban Calibrator, Diagnostica Stago, France) with concentrations of 0, 100, 254 and 494 µg/L and in pooled normal plasma spiked with increasing rivaroxaban concentrations (29, 121, 346 and 734 µg/L), corresponding to through, peak and supratherapeutic levels. A dose-dependent prolongation of both PT and APTT results was observed, with PT and APTT ratios above the reference interval at 121 and 100 µg/L, respectively.

Furthermore, *ex vivo* effect of rivaroxaban was investigated in plasma samples of 21 patients with non-valvular atrial fibrillation (creatinine clearance >50 mL/min) receiving 20 mg of rivaroxaban once daily. Rivaroxaban concentrations were measured in plasma samples taken before (through concentration) and 3h after oral administration (peak concentration) using a chromogenic anti-Xa assay (Berichrom Heparin) calibrated with STA-Rivaroxaban Calibrators. The obtained through (mean: 13.0 µg/L, range: 0-72.2 µg/L) and especially peak concentrations (mean: 105.1 µg/L, range: 1.9-221.3 µg/L) differed considerably between patients, as well as PT peak and through values (2-45%) and APTT ratios (1.01-1.43).

razlike između minimalnih (prosječna koncentracija: 13,0 µg/L, raspon 0-72,2 µg/L), te posebice vršnih koncentracije rivaroxabana koje su iznosile od 1,9 do 221,3 µg/L (prosječna koncentracija: 105,1 µg/L). Razlike PV udjela između vršnih i minimalnih koncentracije iznosile su od 0,02 do 0,45, a APTV omjera od 1,01 do 1,43.

U slučaju potrebe, mogućnost pouzdanog mjerenja antikoagulacijskog učinka NOAK-a koagulacijskim pretragama može pomoći kliničarima u rasvjetljavanju prisutnosti ili odsutnosti lijeka.

e-adresa: dcoen@kbc-zagreb.hr

S3 – Harmonizacija

S3-1

Harmonizacija u predanalitičkoj fazi

Ana-Maria Šimundić

Klinički zavod za kemiju, Klinički bolnički centar Sestre milosrdnice, Zagreb, Hrvatska

Harmonizacija predstavlja potragu za različitostima u postupcima i politici između više paralelnih sustava i stremljenje ka uklanjanju uočenih različitosti. Harmonizacija vodi unaprjeđenju kvalitete jer uklanja izvore varijabilnosti u sustavu i uspostavlja sklad. Na 3rd EFLM-BD European Conference on Preanalytical Phase održanom tijekom 20. – 21. ožujka 2015. u Portu (Portugal) predstavnici niza europskih zemalja članica Europske federacije za kliničku kemiju i laboratorijsku medicinu (European federation for Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, EFLM) jednoglasno su zaključili da je harmonizacija predanalitičke faze nužna i moguća kako na nacionalnoj tako i na međunarodnoj razini te su iskazali svoju spremnost da doprinesu tom cilju. Put prema tom cilju je dugačak i nimalo lak te pun izazova. Koji su preduvjeti za uspjeh?

Osnovni preduvjet za postizanje harmonizacije je postojanje standarda. Standardi trebaju biti temeljeni na dokazima i usmjereni prema pacijentu. Implementacija standarda u predanalitičku fazu je slijedeći korak. Standardizirati se mora gotovo svaki pojedini

In conclusion, the possibility to assess NOACs with reliable coagulation assays can help clinicians, if needed, in elucidating whether an active agent is present or not.

e-mail: dcoen@kbc-zagreb.hr

S3 – Harmonization

S3-1

Harmonization in the preanalytical phase

Ana-Maria Šimundić

University Department of Chemistry, University Hospital Centre Sestre milosrdnice, Zagreb, Croatia

Harmonization encompasses all efforts made in a search for differences in policies and procedures and minimizing these. Since it reduces variability and errors, harmonization certainly leads to the quality improvement in every system. During the 3rd EFLM-BD European Conference on Preanalytical Phase held during 20 – 21 March in Porto (Portugal), representatives of many member societies of European federation for Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (EFLM) have agreed that harmonization is necessary and possible at national as well as at international level and have expressed their willingness to work together with EFLM to work towards this goal. The way forward this goal is long and challenging. Which are the prerequisites for success?

The existence of standards is a major prerequisite in order to reach harmonization. Standards need to be evidence-based and focused to the benefit of the patient. Implementing these standards into the preanalytical phase is the next step. Each step of the preanalytical phase should be standardized, from

dio predanalitičke faze, od izbora analiza, zadavanja testova, pripreme pacijenta, identifikacije pacijenta, načina uzorkovanja te rukovanja s uzorkom i konačno pohrane na dulje ili kraće vrijeme do njegove dostave u laboratorij. Imamo li standarde za sve dijelove predanalitičke faze? Nažalost, standardi za mnoge korake i niz aktivnosti unutar predanalitičke faze ne postoje. Stoga je jedan od najvažnijih zadataka u budućnosti proizvesti što više standarda. To je moguće jedino ako u potpunosti razumijemo i spoznamo sve izvore varijabilnosti unutar nekog segmenta predanalitičke faze i znamo njihove učinke na kvalitetu uzoraka, rezultate testova, ishod pacijenta te financijska sredstva i sve ostale resurse unutar zdravstvenog sustava.

Za one predanalitičke korake za koje standardi već postoje, nužno je implementirati standarde. Uspješna implementacija standarda je pravi izazov za svaki sustav jer podrazumijeva visoku razinu svijesti o važnosti pridržavanja načina rada koji propisuje standard. To se postiže trajnom edukacijom svih uključenih u te procese. U svijetu laboratorijske medicine to znači da moramo krenuti od nas samih, a potom educirati i sve ostale sudionike: liječnike, medicinske sestre, laboratorijske tehničare, pa čak i pacijente. To je uostalom i naša odgovornost definirana ISO 15189 standardom za medicinske laboratorije, koji jasno navodi da je laboratorij odgovoran za upravljanje kvalitetom predanalitičke faze.

Ovo će predavanje prikazati trenutno stanje i razinu standardizacije i harmonizacije predanalitičke faze te ukazati na smjer budućih aktivnosti.

Inicijativa i odgovornost na tom putu mora postojati na više razina: na razini međunarodnih organizacija laboratorijske medicine, na nacionalnoj razini, tj. na nacionalnim društvima u području laboratorijske medicine, na razini pojedinačnih laboratorija te konačno na osobnoj razini. Svatko od nas mora dati svoj doprinos. Valja ujediniti nastojanja i raditi na postizanju konsenzusa. Jedino tako je harmonizacija moguća. Veća sigurnost i boljitak pacijenata mora biti naša osnovna motivacija.

e-adresa: am.simundic@gmail.com

test requesting, test ordering, patient preparation, patient identification, sampling, sample handling, storage and delivery to the laboratory. Do we have preanalytical phase standards? Unfortunately, standards for many of the preanalytical steps do not exist. Our major task for the future is, therefore, to define as many standards as possible. This achievable only if we fully understand and know all potential sources of variability within every preanalytical segment of the total testing process. Furthermore, the effects of these sources of variability on the sample quality, test results, patient outcome and financial outcome should also be known and understood. For those steps for which standards are already there, implementation of the standard is the next step. Successful implementation of the standard is a real challenge since it requires that all who are involved have a deep appreciation of the importance of the standardization of the respective preanalytical step. The compliance and cooperation is achieved through education of all stakeholders, starting from ourselves. Our stakeholders are medical doctors, nurses, laboratory technicians and patients. The education and quality management of preanalytical phase is our responsibility which has been defined in the ISO 15189 standard for medical laboratories. This lecture shall provide an overview of the level of standardization and harmonization of preanalytical phase and point to the way forward by identifying some major challenges for the future.

The initiative for preanalytical harmonization needs to be established at many levels: at the level of international organizations, at national level (i.e. at the level of each national society for laboratory medicine), at the level of each laboratory and finally at individual level of each specialist of laboratory medicine. Each one of us need to make our own contribution. We need to work together in order to achieve consensus. This is the only way through which harmonization can be achieved.

Patient safety and better outcome for the patients needs to be our major goal and motivation.

e-mail: am.simundic@gmail.com

S3-2

Harmonizacija u analitičkoj fazi: deklaracije proizvođača

Nora Nikolac

Klinički zavod za kemiju, Klinički bolnički centar Sestre milosrdnice, Zagreb, Hrvatska

Analitička faza laboratorijskog rada znatno je unaprijeđena tijekom zadnjih desetljeća, te je u današnje vrijeme izvor malog broja pogrešaka u laboratorijskoj praksi. Međutim, i dalje je potreban kontinuiran rad na poboljšanju kvalitete i harmonizaciji svih aspekata analitičke faze rada. U ovom predavanju biti će prikazan pregled potencijalnih problema i nedostataka u deklaracijama proizvođača za laboratorijske reagense.

Deklaracija je dokument priložen uz proizvod koji sadrži sve tehničke i ostale relevantne informacije o proizvodu, opisuje njegove karakteristike i specifikacije. Deklaracije za laboratorijske reagense i pribor regulirane su EU direktivom (*Directive on in vitro diagnostic medical devices* – IVD 98/79/EC). Prema tom dokumentu proizvođači su dužni provesti validaciju svih metoda i analitičkih sustava namijenjenih za dijagnostičke svrhe. Odgovornost je korisnika verificirati da se karakteristike metode dokazane postupkom validacije mogu primijeniti u praktičnome svakodnevnom radu laboratorija. Isti su zahtjevi sadržani i u akreditacijskoj normi ISO 15189 prema kojoj dokumentacija mjernih postupaka mora sadržavati brojne podatke koje su dužni dostaviti proizvođači reagensa. Na žalost, u praksi su često deklaracije proizvođača neharmonizirane, nepotpune, sadrže netočne podatke ili podatke koji se ne mogu potvrditi laboratorijskom verifikacijom.

Harmonizacija prikaza podataka omogućila bi objektivnu usporedbu karakteristika proizvoda prilikom odabira novog reagensa. Proizvođači, barem načelno, zadovoljavaju propisane specifikacije, tako da većina uputa sadrži neke podatke o preciznosti, linearosti ili interferencijama. Međutim, ako pobliže pogledamo npr. podatke o preciznosti reagensa različitih proizvođača, vidimo veliku heterogenost u vrsti materijala korištenog za ispitivanje preciznosti (kontrolni uzorci ili uzorci bolesnika), broju i iznosu korištenih koncentracijskih razina te prikazanim pokazateljima preciznosti (međupreciznost, ponovljivost,

S3-2

Harmonization of the analytical phase: manufacturer's declarations

Nora Nikolac

University Department of Chemistry, University Hospital Centre Sestre milosrdnice, Zagreb, Croatia

During the last few decades, analytical phase of the laboratory work has been significantly improved. Today, only a small proportion of laboratory errors can be attributed to this phase. However, continuous efforts on harmonization are necessary to maintain the high quality of analytical procedures. This lecture will give an overview of potential pits and pitfalls of manufacturer's declarations for laboratory reagents.

Declaration is a document that contains all relevant technical specifications about the product. An EU Directive IVD 98/79/EC *Directive on in vitro diagnostic medical devices* brings legal framework for all medical devices, including laboratory reagents. According to the document, manufacturers are obligated to perform extensive validation of methods and devices used for diagnostic purposes. Laboratory professionals should make sure that declared data can be replicated in the routine conditions. According to ISO 15189 document, method documentation should comprise all relevant technical characteristics. Manufacturers have to provide those data for their users. However, manufacturer's declarations are often incomplete, inaccurate, not harmonized and may contain data that cannot be verified in the practice.

Manufacturers usually comply with legal requisitions and most of them include data on precision, linearity and interferences into their package inserts. However, data on precision is highly heterogeneous in: type of material used for determination (control or patient samples), number of samples, concentration levels or precision components that are provided in the sheet (repeatability, between-run precision, within-day precision, between-day precision or within-laboratory precision).

When providing data on interferences, manufacturers should describe materials and methods used for creating interferences, interferent and analyte concentrations and measured bias values. Manufactur-

unutarlaboratorijska preciznost). Što se tiče deklaracija o interferencijama, proizvođači su dužni prikazati podatke o materijalima koji su korišteni za simulaciju interferencija, točne koncentracije interferenata, koncentracije mjerenih analita i izmjerenu pogrešku. Kriteriji prihvaćanja bi trebali biti temeljeni na biološkoj varijabilnosti. Proizvođači često ne navode na koji su način simulirali interferencije u uzorku, ne navode koncentracije analita na kojima su načinili mjerenja, a za kriterije prihvaćanja koriste kriterije od 5% ili 10%, koji nisu prilagođeni biološkoj varijabilnosti mjerenih analita. Zbog svega navedenog, vrlo je teško usporediti deklarirane podatke za reagense različitih proizvođača ili replicirati rezultate navedene u deklaracijama. Nedavno smo objavili nekoliko radova koji su pokazali nemogućnost potvrde deklaracija proizvođača za laboratorijske reagense ili pribor. Razlozi za ovo vjerojatno leže u činjenici da uvjeti rutinskog laboratorija ne odgovaraju uvjetima testnih laboratorija zbog velikog broja djelatnika uključenih u rad ili dotrajalosti opreme. Također, često se za verifikaciju koriste različiti protokoli ili različiti materijali. Stoga, obaveza je proizvođača koristiti propisane važeće protokole (CLSI smjernice) u validaciji reagensa i prikazati sve relevantne podatke korištenjem odgovarajućih statističkih mjera. Mi smo, kao korisnici, dužni verificirati navode proizvođača prije uvođenja u svakodnevni rutinski rad i osigurati objektivne dokaze o potvrdi specifikacija te kontinuirano raditi na harmonizaciji u svim fazama laboratorijskog rada.

e-adresa: nora.nikolac@gmail.com

S3-3

Harmonizacija u poslijeanalitičkoj fazi: laboratorijski rezultati koje predstavljaju rizik za sigurnost bolesnika

Éva Ajzner^{1,2}, Tünde Miklós¹

¹Jósa András University Hospital, Nyíregyháza, Hungary
²Task and Finish Group on Critical Results of the European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine and the Australasian Association of Clinical Chemistry

Premda kritičan rezultat laboratorijske pretrage može imati značajan utjecaj na medicinske odluke i posljedično na ishod pacijenta, nedostatne su smjer-

ers often don't declare this data. Acceptance criteria should be based on biological variation, but manufacturers often use the same criteria for all analytes (5 or 10%).

It is, therefore, very difficult to compare different reagents. In addition, it is sometimes impossible to replicate declared data and we have recently published several articles that confirm this finding.

Reasons, most likely, lie in the fact that the conditions in the user's laboratories are different due to the large staff fluctuation or deterioration of the laboratory equipment. Also, sometimes different verification protocols can be used. It is, therefore obligation of reagent manufacturers to use valid guidelines in reagent validation and to present all relevant data using appropriate statistical measures. Laboratory professionals are obliged to verify the declared data and provide objective evidence for specification confirmation. Harmonization efforts are required from both sides.

e-mail: nora.nikolac@gmail.com

S3-3

Harmonization of postanalytical phase: laboratory results that represent critical-risk to the patients'safety

Éva Ajzner^{1,2}, Tünde Miklós¹

¹Jósa András University Hospital, Nyíregyháza, Hungary
²Task and Finish Group on Critical Results of the European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine and the Australasian Association of Clinical Chemistry

Although critical laboratory test results may have significant impact on medical decisions and on subsequent patient outcomes there is limited guidance

nice o najboljoj praksi upravljanja laboratorijskim rezultatima koji predstavljaju rizik za sigurnost bolesnika tj. kritičnim vrijednostima. Prepoznajući potrebu za usklađenim normama u tom području, Hrvatsko društvo za medicinsku biokemiju i laboratorijsku medicinu pridružilo se međunarodnoj anketi u organizaciji Radne i izvršne grupe za kritične rezultate Europskog udruženja za kliničku kemiju i laboratorijsku medicinu te Australoazijske udruge za kliničku biokemiju o politici upravljanja kritičnim vrijednostima i kritičnim razinama zajedničkih biokemijskih analiza. Hrvatski laboratoriji su bili pozvani u ovo međunarodno istraživanje s ciljem prikupljanja postojećih praksi o upravljanju kritičnim vrijednostima u cijeloj državi te usporebe popisa kritičnih vrijednosti koje se primjenjuju u svakodnevnoj praksi svih sudionika. Trideset i dva laboratorija odgovorila su na anketu, a devet laboratorija je podijelilo svoje liste kritičnih vrijednosti. Uočili smo veliku varijaciju u praksi upravljanja kritičnim vrijednostima. 70% ispitanih laboratorija ne traže ponavljanje javljene kritične vrijednosti od strane korisnika prilikom javljanja rezultata telefonski. Temeljni uvjet za zajedničku politiku između laboratorija i kliničkog osoblja često nije ispunjen. Samo 13% ispitanika izjavilo je da su relevantni liječnici bili uključeni u donošenje odluka o tome koje laboratorijske pretrage trebaju biti uključene u popis kritičnih rezultata. Kritične vrijednosti utvrđene su u dogovoru s liječnicima u samo 22% ispitanih laboratorija. Postupci za održavanje i praćenje ishoda upravljanja kritičnim vrijednostima također su pokazali varijacije i nedostatke trenutnih praksi: 47% ispitanika redovito unaprjeđuje svoj popis kritičnih vrijednosti; 37% redovito prati da li su kritične vrijednosti dostavljene unutar unaprijed definiranih rokova; 27% laboratorija redovito revidira izvedbu javljanja kritičnih vrijednosti.

Naši rezultati potvrđuju velike varijacije unutar države u upravljanju kritičnim vrijednostima, a koje su opisane u literaturi i ističu potrebu za uvođenjem preporuka dobre prakse za učinkovitije komuniciranje o kritičnim vrijednostima.

e-adresa: ajzner@med.unideb.hu

on best practices of the management of laboratory results that represent critical-risk to the patients' safety (CR). Recognizing the need for harmonized standards in the field the Croatian Society of Medical Biochemistry and Laboratory medicine joined to the international survey organized by the Task and Finish Group on Critical Results of the European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine and the Australasian Association of Clinical Biochemistry on CR management policies and alert thresholds of common biochemistry analytes. Croatian laboratories were invited to this international survey with a goal to collect existing practices in the management of CR countrywide and to compare the participants' CR lists applied in everyday practice.

Thirtytwo laboratories responded to the survey and nine laboratories shared their CR lists. We observed a great variation in CR management practices and detected a failure in reading back results when CR notification was done by telephone in 70% of the responding laboratories. The fundamental requirement for a shared policy between laboratory and clinical staff was often not fulfilled. Only 13% of respondents reported that relevant physicians were involved in decisions of which tests should be included in the laboratory's critical result list. Alert thresholds were established in consultation with doctors in only 22% of the responding laboratories. Procedures for the maintenance and monitoring of the outcome of critical result management have also shown variations and shortcomings of current practices: 47% of respondents review their critical result list on a regular basis; 37% regularly monitor whether critical results are delivered within predetermined timeframes; and 27% of laboratories audit regularly their performance of delivering critical results. Our results confirm the large within country variations in CR management described in the literature and highlight the need for best practice recommendations for more efficient communication of CR.

e-mail: ajzner@med.unideb.hu

S4 - Laboratorijska dijagnostika bolesti bubrega

S4-1

Dijagnostički algoritmi za bolesti bubrega – uloga sedimenta mokraće i diferencijacije proteina u mokraći

Walter G. Guder

Working Group Diagnostic Pathways of the German United Society for Clinical Chemistry and Laboratory Medicine and the Society of Nephrology, Munich, Germany

Broj pacijenata na dijalizi povećava se diljem svijeta. Stručnjaci predviđaju da će se u idućih deset godina njihov broj udvostručiti. Stoga su potrebni programi koji bi omogućili ranije otkrivanje bubrežne insuficijencije kako bi se smanjio broj pacijenata s terminalnom bubrežnom bolesti. Dijagnostički algoritmi su alati koji poboljšavaju dijagnostičke standarde ne samo u kliničkim bolnicama nego u svim medicinskim ustanovama. Primjer takvog algoritma razvila je stručna grupa nefrologa i kliničkih kemičara, a trenutno rade na odgovarajućim smjernicama.

Laboratorijski probir za isključenje bolesti bubrega uključivat će osjetljivi biljeg glomerularne filtracije u plazmi/serumu (cistatin C i/ili kreatinin temeljen na referentnoj metodi) i nalaz test trake za proteine (albumin), krv, hemoglobin, mioglobin (pseudoperoxidazna aktivnost), leukocite (granulocitna indoksidesteraza) i nitrite, a prema specifičnoj težini (provodljivost) ili kreatininu. Osim toga vizualni pregled mokraće još je uvijek koristan za potvrdu stanja pacijenta (boja, izgled). Sediment mokraće je indiciran samo u ranoj fazi kada je prisutna sumnja na cistinuriju i druge patološke kristale koji mogu formirati kamence te kod rasvjetljavanja pozitivnog nalaza test trake za krv, leukocite ili nitrite.

Kod hematurije i/ili leukociturije sediment mokraće može pomoći pri razlikovanju predbubrežnih od bubrežnih uzroka ukazujući na eritrocite, eritrocitne cilindre i broj akantocita. Kada dođe do naknadnog povećanja eritrocita ili eritrocitnih cilindara (iznad 10%) treba pretpostaviti da se radi o bubrežnom uzroku hematurije. S druge strane, uključivanje omjera α_2 -makroglobulin/albumin može jasno odijeliti bubrežne od postbubrežnih uzroka. Leukocitni cilindri uka-

S4 - Laboratory diagnostics of kidney disease

S4-1

Diagnostic pathways for exclusion and diagnosis of kidney diseases. The role of urine sediment and urine protein differentiation

Walter G. Guder

Working Group Diagnostic Pathways of the German United Society for Clinical Chemistry and Laboratory Medicine and the Society of Nephrology, Munich, Germany

The number of patients with dialysis increases worldwide. Experts anticipate a doubling of dialysis patients in the next ten years. Therefore programs are needed to detect kidney insufficiency earlier to reduce the number of patients with end stage renal disease. Diagnostic pathways are such tools to improve diagnostic standards not only in university hospitals but in all medical institutions. Based on existing recommendations an expert group of nephrologists and clinical chemists have developed such diagnostic pathways and are presently working on relevant guidelines.

Laboratory screening for the exclusion of kidney diseases will include a sensitive marker for glomerular filtration rate in plasma/serum (cystatin C and/or reference method based creatinine) and teststrips for protein (albumin), blood, hemoglobin, myoglobin (peroxidase like activity), leucocytes (granulocyte indoxylesterase) and nitrite, based on either specific gravity (conductivity) or creatinine. In addition a visual examination of urine seems still useful to confirm observations of patients (colour, turbidity). Urine sediment is indicated only in this early stage, when one of the following symptoms or signs is present: Suspicion of cystinuria and other pathogenetic stone forming crystals, clarification of positive test strip fields for blood, leucocytes or nitrite.

In hematuria and/or leucocyturia urinary sediment can help to differentiate prerenal from renal and postrenal causes by identifying erythrocytes, erythrocyte casts and quantitate acanthocytes. When the latter increase above 10% of erythrocytes or erythrocyte casts are seen, a renal cause of hematuria is to be assumed. On the other hand, inclusion of α_2 -

zuju na bubrežni uzrok leukociturije. U ovom slučaju omjer α_1 -mikroglobulin/kreatinin > 14 mg/g ukazuje na bubrežni uzrok leukociturije (npr. pijelonefritis, ali i sekundarnu tubularnu insuficijenciju zbog povišenog tlaka u postbubrežnim putevima kojeg uzrokuju kamenci ili adenom prostate). Kod proteinurije (albumin > 20 mg/g kreatinina) predbubrežni, bubrežni i postbubrežni uzroci mogu se razlikovati postupnim određivanjem odgovarajućih proteina.

Kako se proteini u mokraći mogu postupno mjeriti na rutinskim analizatorima, a sastojci sedimenta se mogu određivati na analizatorima na principu protočne citometrije i automatizirane mikroskopije, u iskusnim se laboratorijima mogu primjenjivati obje strategije kako bi kliničar dobio interpretativan rezultat koji bi dao odgovor na medicinsko pitanje o bolesti bubrega.

Kako principi diferencijacije proteina imaju istu dijagnostičku osjetljivost i specifičnost kao i novi biljezi tubularne insuficijencije, analiza sedimenta mokraće može zadržati svoju važnost u iskusnim rukama (očima) kod dobro definiranih područja diferencijalne dijagnostike u urologiji i nefrologiji.

e-adresa: walter.guder@extern.lrz-muenchen.de

macroglobulin/albumin ratio can clearly separate renal from postrenal causes. Leucocyte casts indicate a renal cause of leucocyturia. Here α_1 -microglobulin/creatinine ratio > 14 mg/g indicates a renal cause of leucocyturia (like pyelonephritis, but also secondary tubular insufficiency due to high pressure in the postrenal pathways caused by stones or prostate adenoma). In proteinuria (albumin > 20 mg/g creatinine) prerenal, glomerular and postrenal causes can be differentiated by stepwise measurement of the respective proteins.

After urine proteins can be measured on routine analysers in a stepwise manner, and sediment constituents can be measured by flow cytometric and microscopic analyzers, both strategies may be used in an experienced laboratory to provide the clinician with interpretative results answering the medical question regarding kidney diseases. After the protein differentiation technique seems of the same diagnostic sensitivity and specificity as other new markers of tubular insufficiency, urine sediment analysis may sustain its importance in experienced hands (eyes) in well-defined areas of differential diagnosis in urology and nephrology.

e-mail: walter.guder@extern.lrz-muenchen.de

S4-2

Procjena glomerularne filtracije – teorija i praksa

Vanja Radišić Biljak

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

Kronična bubrežna bolest (KBB) predstavlja veliki javno zdravstveni problem diljem svijeta. Krajnji ishodi uključuju zatajenje bubrega, kardiovaskularni pobol i prijevremenu smrt. Razvija se tijekom više godina, uključujući dugotrajan latentni period u kojem nema kliničkih simptoma. Upravo zbog toga postavljanje dijagnoze, stupnjevanje bolesti i liječenje se temelji na biomarkerima procjene bubrežne funkcije. Glomerularna filtracija (GFR) je idealan marker bubrežne funkcije, kako u zdravlju tako i u bolesti. Međutim,

S4-2

Estimated glomerular filtration rate – from theory to practice

Vanja Radišić Biljak

Department of Medical Biochemistry and Laboratory Medicine, Merkur University Hospital, Zagreb, Croatia

Chronic kidney disease (CKD) is a world-wide public health problem, with adverse outcomes of kidney failure, cardiovascular disease, and premature death. CKD typically evolves over many years, with a long latent period when the disease is clinically silent and therefore diagnosis, evaluation and treatment is based mainly on biomarkers that assess kidney function.

Glomerular filtration rate (GFR) remains an ideal marker of kidney function. However, the gold stan-

zlatni standard za mjerenje glomerularne filtracije je inulin; egzogena tvar koja zahtijeva kontinuiranu intravensku administraciju. Alternativno, moguće je primjena radionuklida (^{125}I -iootalamat, ^{51}Cr -EDTA ili $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -DTPA). Također, mjerenje glomerularne filtracije je vremenski zahtjevan, kompleksan i skup postupak. Niti jedna od navedenih tehnika mjerenja glomerularne filtracije nije prikladna za pretraživanje asimptomatske populacije u svrhu postavljanje rane dijagnoze KBB.

Moguća alternativa mjerenju glomerularne filtracije dugo vremena bilo je mjerenje klirensa kreatinina u uzorku 24-mokraće. Međutim, sakupljanje točne količine 24h mokraće je vrlo nepraktično i podložno pogreškama koje imaju direktan utjecaj na rezultat pretrage klirensa kreatinina. Također, zbog dodatne tubularne sekrecije kreatinina, klirens kreatinina značajno precjenjuje glomerularnu filtraciju za do 10 do 40% te, na taj način, može prikriti moguće oštećenje bubrega.

National Kidney Foundation Disease Outcomes Quality Initiative (K-DOQI) preporuča procjenu glomerularne filtracije (eGFR) preko dostupnih prediktivnih jednadžbi temeljenih na koncentraciji kreatinina u serumu i osnovnih demografskih obilježja (dob, spol, rasa). Jednadžbe za procjenu GFR su vrlo korisne jer pružaju točniju procjenu glomerularne filtracije u odnosu na serumsku razinu filtracijskog markera (kreatinin, cistatin C); izražavaju procjenu GFR u istim jedinicama u kojima se iskazuje mjerena GFR, na taj način olakšavajući kliničku odluku. Mnogi laboratoriji diljem svijeta rutinski izvještavaju eGFR uz svaki nalaz kreatinina u serumu (Velika Britanija, Francuska, Australija, više od 80% laboratorija u SAD). Također, u tijeku je prijelaz sa MDRD (engl. *Modification of Diet in Renal Disease study*) jednadžbe za procjenu GFR na CKD-EPI (engl. *Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration*) jednadžbu koja koristi iste varijable kao MDRD jednadžba, ali je mnogo točnija u području viših vrijednosti GFR. CKD-EPI jednadžba je preporučena jednadžba za rutinsko izvještavanje eGFR prema važećim nefrološkim smjernicama (KDIGO 2012 Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease).

Anketno istraživanje u medicinsko-biokemijskim laboratorijima u Hrvatskoj pokazalo je nezadovoljavajuće stanje u dijelu laboratorijske dijagnostike KBB. Vrlo velik udio laboratorija koji mjere koncentraciju serumskog kreatinina ne izvještava vrijednost eGFR

dard for measuring GFR has been a plant polysaccharide called inulin, an exogenous substance requiring injection and a complex collection protocol. Alternatives involve administration of radionuclides such as ^{125}I -iothalamate, ^{51}Cr -EDTA or $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -DTPA. All these procedures are labour-intensive and too costly for routine use. None of these techniques is suitable as a screening procedure for the detection of CKD.

As one of the possible alternatives, a 24 h urine creatinine clearance has been regarded as a more sensitive tool for the detection of kidney failure. However, the inconvenience of a timed urine collection, failure to collect the entire specimen, and the wide within-subject variability, restrict the usefulness of this procedure. Furthermore, there is some tubular secretion of creatinine and as a result, healthy individuals could have a creatinine clearance 10 to 40% higher than measured by inulin clearance, thereby overestimating GFR and masking any future or present renal impairment.

The National Kidney Foundation, through its Kidney Disease Outcomes Quality Initiative (K-DOQI) recommended use of estimates of GFR calculated from prediction equations based on plasma or serum creatinine and general demographic data (age, sex, gender). GFR estimating equations are useful because they provide a more accurate estimate of measured GFR than the serum level of the filtration marker alone (creatinine, cystatin C); they are expressed in the same units as measured GFR, which facilitates clinical decisions based on the level of kidney function. Large number of laboratories throughout the world routinely report eGFR with every creatinine request (UK, France, Australia, more than 80% of US clinical laboratories). And there is a change from mostly used MDRD (Modification of Diet in Renal Disease study) equation for GFR estimation to CKD-EPI (Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration) equation, which uses the same variables as the MDRD study but is more accurate across the range of GFR. Also, CKD-EPI is the recommended equation for routine eGFR reporting by the KDIGO 2012 Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease. Recently conducted survey among Croatian medical-biochemistry laboratories showed that laboratory diagnostics of CKD is not standardized. Almost 74% of laboratories do not report eGFR. The most commonly used equation for GFR estimation is

(74%). Najmanji udio laboratorija koji izvještavaju eGFR je u primarnoj zdravstvenoj zaštiti koja predstavlja prvi instancu u pretraživanju KBB u asimptomatskoj populaciji. Također, najučestalije korištena jednadžba za izračun procjene glomerularne filtracije je MDRD jednadžba, dok vrlo mali broj koristi preporučenu CKD-EPI jednadžbu. Ono što je izrazito zabrinjavajuće je nesukladnost između rutinske metode za mjerenje koncentracije serumskog kreatinina i korištene jednadžbe za izračun eGFR u pojedinim laboratorijima. Upravo iz navedenih razloga 2014. osnovana je zajednička Radna grupa (RG) HDMBLM i HKMB za laboratorijsku dijagnostiku KBB. Osnovni cilj RG za 2015. godinu je proizvesti jednostavne i primjenjive nacionalne preporuke za laboratorijsku dijagnostiku KBB te pokrenuti implementaciju izračuna i izvještavanja vrijednosti eGFR u svim laboratorijima diljem Republike Hrvatske.

e-adresa: vanja.radisic@gmail.com

S4-3

Akutno zatajenje bubrega

Lorena Honović

Odjel za laboratorijsku dijagnostiku, Opća bolnica Pula, Pula, Hrvatska

Akutno zatajenje bubrega (AZB) predstavlja klinički sindrom obilježen brzim i naglim smanjenjem protoka krvi kroz bubrege te značajnim smanjenjem glomerularne filtracije (GF) koji se zbiva u vrlo kratkom vremenskom periodu. Uz smanjenu GF, javlja se smanjeno izlučivanje mokraćne, poremećaj koncentracije elektrolita (hiperkalijemija, hiperfosfatemija, hipokalcemija), poremećaj acidobazne ravnoteže (acidoza) i nakupljanje dušičnih spojeva (azotemija). Nastajanjem uremije remeti se i zgrušavanje krvi, a zna se javiti i perikarditis. Izlučivanje urina je različito, ovisno o vrsti i uzroku, a gotovo u 3/4 slučajeva radi se o oliguriji ili anuriji. Klinička slika AZB odraz je osnovne bolesti ili kirurškog zahvata koji je pokrenuo AZB, a porastom azotemije javljaju se i simptomi uremije (anoreksija, mučnina, povraćanje, malaksalost, konvulzije i komatozno stanje). Nakupljanje tekućine u plućima uzrokuje dispneju i krepitacije. Ovisno o

MDRD equation. What is very concerning is the observed discrepancy between routine method for serum creatinine measurement and equation used for eGFR calculation seen in some laboratories. For that reasons joint Working group (WG) of Croatian society of medical biochemistry and laboratory medicine and Croatian chamber of medical biochemists was established in 2014. with the very first goal to produce easily applicable national recommendations for laboratory diagnostics of CKD.

e-mail: vanja.radisic@gmail.com

S4-3

Acute renal failure

Lorena Honović

Department of Laboratory Diagnostics, General Hospital Pula, Pula, Croatia

Acute renal failure (ARF) is a clinical syndrome characterized by a rapid and sudden reduction of blood flow through the kidneys and significant reduction in glomerular filtration (GF), which takes place in a very short period of time. Reduction of GF causes reduced urine excretion, disturbance of electrolyte (hyperkalemia, hyperphosphatemia, hypocalcemia), disturbance of acid-base balance (acidosis) and accumulation of nitrogen compounds (azotemia). Urea formation and blood clotting is disturbed. The excretion of urine is affected, and depending on the type and cause of ARF, almost 3/4 of cases show oliguria or anuria. The clinical ARF reflects the primary illness or surgical procedure that is initiated. The accumulation of fluid in the lungs causes shortness of breath and crepitus. Depending on the defect (glomerulonephritis or myoglobinuria) urine can be dark brown, and obstruc-

uzorku (glomerulonefritis ili mioglobinurija) mokraća može biti tamno smeđe boje, a pri opstrukciji izgonskog trakta može se palpirati rastegnuti mjehur. Uzroci AZB su najčešće hemodinamički poremećaji, infekcije, metabolički poremećaji, fizikalni i kemijski agensi, a oštećenja mogu nastati na razini žilnog sustava bubrega, glomerula i tubula. Klinički sindromi mogu se podijeliti u 3 osnovne skupine: prerenalni, renalni (intrinzički) i postrenalni.

Svako stanje obilježeno hipovolemijom ili smanjivanjem efektivnog volumena cirkulirajuće krvi zbog sistemske vazodilatacije ili smanjenog udarnog volumena srca, može dovesti do razvoja prerenalnog AZB. Stanice parenhima bubrega nisu oštećene, a ispravljanjem hemodinamskog poremećaja normalizira se bubrežna funkcija. Hipoperfuzija uzrokuje povećanu reapsorpciju Na i vode s oligurijom i visokom osmolalnošću urina uz nisku natriuriju.

Renalno AZB najčešće nastaje zbog primarnih bolesti bubrega ili ozljeda bubrega koje dovode do produžene ishemije, bolesti tubula i intersticija, bolesti bubrežne mikrocirkulacije ili glomerula i bolesti većih krvnih žila bubrega. Uz navedene, razlozi mogu biti nefrotoksičnost i intravenozni jodni radiokontrasti. Oštećenjem tubula smanjuje se reapsorpcija natrija pa je koncentracija natrija u mokraći povišena što pomaže u postavljanju dijagnoze.

Postrenalno AZB posljedica je opstrukcije oticanja mokraće koja može nastati u bolesnika s obostranom opstrukcijom, opstrukcijom ispod razine mokraćnog mjehura, ili u slučaju jednostrane opstrukcije jedinog funkcionirajućeg bubrega. Zbog opstrukcije protoka snižava se GF, poremećen je protok kroz bubrege pa nakon 24 h pada <50% normale zbog povećanog otpora u bubrežnom žilnom sustavu.

Klasifikacija stadija AZB uključuje dva klasifikacijska sustava: AKIN (engl. *Acute Kidney Injury Network*) i RIFLE (engl. *Risk, Injury, Failure, Loss, and End-stage kidney disease criteria*). Uporabom RIFLE kriterija AZB se klasificira u pet stadija temeljem postotka povećanja koncentracije serumskog kreatinina ili smanjenjem GF. AKIN kriteriji AZB klasificiraju u tri stadija koristeći apsolutnu vrijednost povećanja koncentracije serumskog kreatinina.

Dijagnostika AZB zahtijeva potpunu procjenu od strane liječnika: pregled povijesti bolesti zbog mogućih nefrotoksičnih utjecaja, praćenje volumena mokraće, pretraživanja na sistavne bolesti koja bi mogle utjecati na rad bubrega, slikovnu dijagnostiku (UZV, CT, MR) kojom se procjenjuje i veličina bubrega

tion of expulsion tract may be palpated as stretch bladder.

The causes of ARF are most commonly hemodynamic disorders, infections, metabolic disorders, physical and chemical agents, and damage may occur at the vascular system kidney glomeruli and tubules. Clinical syndromes can be divided into three basic groups: prerenal, renal (intrinsic) and postrenal.

Any condition with marked hypovolemia, reduction of the effective volume of circulating blood due to systemic vasodilation, or the reduced stroke volume of the heart, can lead to the development of prerenal ARF. Kidney parenchyma cells are not damaged, and the correction of hemodynamic disorders normalizes renal function. Hypoperfusion causes increased reabsorption of sodium and water with oliguria and high urine osmolality with low sodium in urine.

Renal ARF most often occurs due to primary renal disease or renal injury leading to prolonged ischemia, tubular and interstitial disease, kidney disease or glomerular microcirculatory disease. In addition to these, the reasons may be nephrotoxicity of some drugs and intravenous iodine contrast agents. Damage to the tubules reduces the reabsorption of sodium and the concentration of sodium in the urine increased, which helps in the diagnosis.

Obstruction of urine leakage can lead to postrenal ARF, and it can occur in patients with bilateral obstruction, obstruction below the bladder, or in the case of unilateral obstruction of the only functioning kidney. Because of the obstruction of the flow, the GF decreased, the flow through the kidneys is disrupted and after 24 hours GF decreased <50% of normal due to the increased resistance in the renal vascular system.

There are two proposed criteria for diagnosis and staging of ARF: AKIN (*Acute Kidney Injury Network*) and the RIFLE (*Risk, Injury, Failure, Loss, and End-Stage Kidney Disease*). According to RIFLE criteria, ARF is classified into five stages based on the percentage increase in serum creatinine or decrease in GF. An AKIN criterion classifies ARF in three stages using the absolute value of the increase in serum creatinine.

Diagnosis of ARF requires a complete assessment by a clinician: reviewing the history of the disease because of possible nephrotoxic influence, monitoring urine volume, searching for systemic diseases that might affect kidney function, imaging techniques (ultrasound, CT, MRI) to assess the size of the kidney.

značajna za prognozu. Ukoliko je dijagnoza nejasna izvodi se i biopsija bubrega.

Laboratorijska dijagnostika tradicionalno uključuje određivanje koncentracija: serumskog kreatinina i procjene GF, kalija, ureje, anorganskih fosfata, ABS-a, pregleda sedimenta mokraće te određivanje novijih biljega oštećenja bubrega poput NGAL (engl. *Neutrophil gelatinase-associated lipocalin*) i KIM-1 (engl. *Kidney injury molecule*).

AZB se najčešće javlja u hospitaliziranih bolesnika s ozljedama, opeklinama, opsežnim krvarenjima ili onima koji se podvrgavaju većem kirurškom zahvatu u kojih se AZB može spriječiti održavanjem ravnoteže tekućina, volumena krvi i arterijskog tlaka. Uprvo iz tih razloga ali i zbog značajnog mortaliteta, AZB zahtijeva sustavan pristup prevenciji, ranom otkrivanju i dijagnostici.

e-adresa: lhonovic1@gmail.com

If the diagnosis is unclear kidney biopsy should be performed.

Laboratory diagnostics of ARF traditionally includes the determination of serum creatinine (and estimation of GF), potassium, urea, inorganic phosphate, ABS, examination of urine sediment and lately determination of the newer markers of kidney damage, such as NGAL (*Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin*) and KIM-1 (*Kidney Injury Molecule*).

ARF is most common in hospitalized patients with injuries, burns, extensive bleeding or those undergoing major surgery in which it can be prevented by maintaining fluid balance, blood volume and blood pressure. Given that AFR is associated with significant morbidity and mortality, it requires a systematic approach for prevention, early detection and diagnosis.

e-mail: lhonovic1@gmail.com

S5 - Molekularna dijagnostika

S5-1

Molekularna dijagnostika i izazovi post-genomskog doba

Karmela Barišić

Zavod za medicinsku biokemiju i hematologiju, Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb, Hrvatska

U predavanju će biti govora o suvremenim izazovima molekularne dijagnostike u razdoblju nakon otkrića sveukupnog slijeda ljudskoga genoma.

Sekvenciranje ljudskoga genoma znanstveni je događaj koji je obilježio kraj drugoga i početak trećega tisućljeća. Petnaestak godina kasnije raspoložemo velikom količinom informacija o individualnim sljedovima DNA pohranjenim u bazama podataka što omogućava istraživanje individualnih genomskih varijanti. Njihova kompleksnost znatno je veća nego se prvotno očekivalo. Obuhvaća promjene u nukleotidnom slijedu na razini jednoga nukleotida (SNP), varijacija u broju kopija (CNV) te modifikacije koje se događaju tijekom transkripcije, a neovisne su o samoj sekvenciji (epigenetske modifikacije).

S5 - Molecular diagnostics

S5-1

Molecular diagnostics and the challenges of post-genomic era

Karmela Barišić

Department of Medical Biochemistry and Hematology, Zagreb University Faculty of Pharmacy and Biochemistry, Zagreb, Croatia

The lecture will discuss the challenges of modern molecular diagnostics in the period after the discovery of the overall sequence of the human genome.

The sequencing of the human genome is a scientific event that marked the end of the second and the beginning of the third millennium. Fifteen years later, a large amount of information is available to us on the individual DNA sequences stored in databases, which enables research of individual genomic variants. Their complexity is significantly greater than previously expected. It includes single nucleotide polymorphism (SNP), a variation in the number of copies (CNV), and epigenetic modification. Moreover, the RNA world (especially non-coding RNAs, microRNAs, transcripts of pseudogenes, alternative-

Osim mogućnosti istraživanja individualnih genoma post-genomsko doba obilježava usmjeravanje interesa prema transkriptomu odnosno molekulama RNA. Istraživački, ali i dijagnostički i terapijski, atraktivnima postaju nekodirajuće RNA, mikroRNA, transkripti pseudogena te alternativno prekriveni transkripti.

Za post-genomsko doba slobodno se može reći da je doba različitih „oma“ poput genoma, transkriptoma, eksoma, proteoma, metaboloma i sl. To možemo zahvaliti suvremenim tehnologijama visoke propusnosti koje omogućavaju analize različitih „oma“ u kratkom vremenu. Brza analiza genoma, transkriptoma, proteoma i dr. danas je moguća kako na razini vrste tako i na individualnoj razini. Ta mogućnost otvara nove perspektive u dijagnostici i terapiji. One se temelje na razumijevanju značenja individualnih genomskih različitosti i njihovu povezivanju s fenotipskim obilježjima i patološkim stanjima. Nove spoznaje i mogućnosti nužno vode k individualiziranju dijagnostičkog i terapijskog pristupa, tj. razvoju personalizirane medicine.

e-adresa: kbarisic@pharma.hr

S5-2

Nutrigenomika – prevencija ili liječenje

Daria Pašalić

Zavod za kemiju i biokemiju, Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb, Hrvatska

Svakodnevnim unosom namirnica omogućava se apsorpcija, prijenos, metabolizam i izlučivanje prehrambenih sastojaka i bioaktivnih tvari među kojima su i različite vrste proteina. Dobro nam je poznato da proteini imaju raznolike uloge u organizmu kao enzimi, receptori, prijenosni proteini, ionski kanali i hormoni. Promjene u genima koji kodiraju odgovarajuće proteine mogu dovesti do promijenjene funkcionalnosti proteina, a time i do promjena u prehrambenom statusu. Rekli bismo da se radi o nekim suvremenim spoznajama, ali još je najpoznatiji grčki liječnik Hipokrat (oko 460. - 377. pr.n.e.) izrekao „*Neka tvoja hrana bude tvoj lijek, a tvoj lijek neka bude tvoja hrana*“. Stoga, ispitivanje međusobne ovisnosti gena i hrane ili nutrigenomika ima zadaću usmjerenu na spoznaje

ly spliced transcripts) becomes very attractive, either for research or for diagnostic and therapeutic applications.

High-throughput technology enables for analysis of genome, transcriptome, proteome, exome, metabolome, etc. in a short time. This possibility allows new perspectives in diagnosis and therapy, guiding them towards an individualized approach, i.e. personalized medicine.

e-mail: kbarisic@pharma.hr

S5-2

Nutrigenomics – prevention or treatment

Daria Pašalić

Department of Chemistry and Biochemistry, Zagreb University School of Medicine, Zagreb, Croatia

Daily nutrition provides absorption, transport, metabolism and excretion of nutritional stuffs and bioactive compounds which includes different protein classes. It is well known that proteins revealed different roles like enzymes, receptors, transporters, ion channels and hormones. Genetic variation, that encode specific proteins may lead to variation in protein functionality and thus to change in nutritional effects. It seems that this is up to date scientific knowledge but the art of eating foods for its medicinal value dates back more than 5000 years. The famous physician Hippocrates told (460 – 377 BC) “*Let food be your medicine and medicine be your food.*”

The study of the effects of foods and food constituents on gene expression investigates the molecular level of interactions between nutrients with the genome.

o tome kako hrana utječe na ulogu gena i kako genske varijante utječu na učinak nekog nutrijenta.

Dobro nam je poznata uloga laboratorijske medicine s dijagnostičke strane kao i uloga prehrane u liječenju kod nekih monogenih bolesti poput fenilketonurije ili intolerancije na laktozu. Ograničavanjem namirnica koje sadrže laktozu u slučaju intolerancije na laktozu ili unošenjem hrane s vrlo malim količinama fenilalanina kod fenilketonurije odličan su primjer kao se hranom može liječiti posljedice genskih mutacija. Međutim daleko su veći izazovi u nutrigenomici ispitati i definirati interakcije gena i nutrijenta koji dovode do kompleksnih poligenih bolesti poput pretilosti, metaboličkog sindroma, dijabetesa mellitusa, malignih i kardiovaskularnih bolesti. Još je veći izazov točno definirati preventivni pristup, ali i način liječenja bolesti.

Prehrana je uglavnom usmjerena na smanjenje rizika od poligenih bolesti odnosno na prevenciju zdravih ili liječenje pacijenata u ranijim stadijima bolesti. Zato su vrlo važni biomarkeri koji mogu pretkazati sklonost ili oni koji mogu otkriti bolest u što ranijoj fazi, kako bi se odgovarajućim nutritivnim pristupom smanjio taj rizik.

Iskustva iz kliničke prakse govore da kod različitih osoba isti pristup i iste prehrane preporuke ne dovode do istog odgovora. Kod liječenja metaboličkog sindroma različiti genotip (tzv. FTO genske varijante *fatt-mass, obesity associated gene*) zajedno s utjecajima svih čimbenika okoline traži specifične dijetalne mjere ili tzv. personaliziranu dijetu za kontrolu kalorija prilagođenu osobnom genotipu. Istraživanja ovog genskog polimorfizma u dječjoj populaciji, kojoj je bila dopuštena neograničena i raznolika prehrana, su pokazala da djeca s FTO-polimorfizmom u prvom intronu FTO-gena radije konzumiraju hranu s većim sadržajem kalorija nego li ona koja ga nemaju. Jedna od najznačajnijih spoznaja vezana za prevenciju karcinoma debelog crijeva vezana je uz ispitivanje gena za receptor vitamina D (*VDR Fok 1* polimorfizam) i homeostazu kalcija. Ovaj polimorfizam ima utjecaja na učinak receptora prema vitaminu D tako da je genska varijanta koja generira slabiji odgovor receptora prema vitaminu D povezana s većom učestalosti kolonorektalnog karcinoma.

Masti u prehrani se vrlo često povezuju s kroničnim bolestima. Opći je stav da su masti nešto „negativno“, međutim znanstvene činjenice kao i uloga masti

It is well known the role of laboratory medicine in diagnostics, as well as the role of nutrition in treatment of monogenic disorders like phenylketonuria and lactose intolerance. Restriction of lactose-rich nutrients or phenylalanine-rich nutrients in patient who suffer from lactose intolerance or phenylketonuria, respectively, represent an excellent example how to treat monogenic disorders. But, it is greater challenge to investigate and define interaction between genes and nutrients of complex monogenic disorders like obesity, metabolic syndrome, diabetes mellitus, cancers and cardiovascular disorders. It is much more complicated to provide the exact guidelines in preventing a treatment of those disorders. Nutrition is mostly directed to decreasing the risk for polygenic disorders, to prevention of health people and treatment of patients in earlier stages of the disease. Therefore, it is very important to identify the biomarkers that indicate predisposition for disease, or those biomarkers which detect diseases in early stage of the disease. In that case it should be possible to decrease the risk with suitable nutritional recommendations.

Experience from clinical praxis showed that genetic variants contribute to susceptibility to disease through modulating the effects of individual's physiology. For example, in treatment of metabolic syndrome, it was evidenced that the presence of common genetic variant at the FTO (fat mass- and obesity-associated gene) in interaction with environmental factors requires some specific nutritional treatment or so call personalized diet, adapted to personal genotype. It was evidenced that children faced with an unlimited supply of food who have genetic polymorphism in first intron of FTO-gene consumed more calories when compared to children without FTO-polymorphism.

One of the most significant finding in preventing of colon cancer is related to the investigation of the gene that encode vitamin D-receptor (*VDR Fok 1* polymorphism) and calcium homeostasis. Namely, *VDR Fok 1* genetic variant is associated with lower interactions between vitamin D and receptor, and it is associated with higher prevalence of colorectal carcinoma. Fats in nutrition are often associated with different chronic disorders. According to the general perception, fats are something "negative" in foodstuffs, but scientific investigations showed that fats and different fatty acids have very important role in me-

i različitih masnih kiselina te njihovi pravilni omjeri u prehrani u dobroj mjeri opovrgavaju takav stav. Veliki broj kliničkih studij je dokazao da postoji različiti grupni i individualni odgovor na „zdravu ishranu“, stoga je personalizirana prehrana uz promjenu ostalih životnih navika značajan čimbenik u prevenciji i liječenju kroničnih bolesti.

e-adresa: daria.pasalic@mef.hr

S5-3

Molekularna dijagnostika kronične opstruktivske plućne bolesti

Lada Rumora

Zavod za medicinsku biokemiju i hematologiju, Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb, Hrvatska

Kronična opstruktivska plućna bolest (KOPB) jedna je od najučestalijih bolesti. Procjenjuje se da oko 10% osoba iznad 40 godina starosti ima KOPB te da od posljedica bolesti godišnje u svijetu umire oko 3 milijuna ljudi. Predviđa se da će 2030. godine KOPB postati četvrti najučestaliji uzročnik smrtnosti.

„Zlatni standard“ u dijagnostici KOPB-a još uvijek je spirometrija. Stupanj ograničenja protoka zraka (koji se procjenjuje mjerenjem forsiranog izdisajnog volumena u prvoj sekundi (FEV₁)) koristi se i za dijagnostičiranje bolesti i za odabir terapijskog pristupa u bolesnika s KOPB-om. Ipak, pokazalo se da je FEV₁ slabo povezan s drugim klinički značajnim karakteristikama bolesti, poput simptoma bolesti (zaduha, kronični kašalj, produkcija sputuma), zdravstvenog statusa, fizičkih sposobnosti, učestalosti egzacerbacija, prisutnosti komorbiditeta ili uzroka smrtnosti. Stoga FEV₁ nije dovoljan marker koji bi opisao ovu kompleksnu i heterogenu bolest te je u kliničku praksu potrebno uvesti druge (bio)markere koji bi ukazali na značajne ishode bolesti u bolesnika s KOPB-om (*npr.* rizik od smrtnosti, učestalost egzacerbacija i/ili odgovor na primijenjenu terapiju).

Pušenje cigareta jedan je od glavnih čimbenika rizika za razvoj KOPB-a; ipak, samo 10-20% pušača tijekom života razvije bolest. Važno je naglasiti da je KOPB posljedica interakcija genskih i okolišnih čimbenika.

metabolism and health. For health is much more important to provide an adequate ratio of different nutritional fats than reduction of fats.

Many clinical studies improved different group or individual response to “health nutrition”. Therefore, personalized diet and changing of life habits are significant factor in prevention and treatment of chronic diseases.

e-mail: daria.pasalic@mef.hr

S5-3

Molecular diagnostics of chronic obstructive pulmonary disease

Lada Rumora

Department of Medical Biochemistry and Haematology, Zagreb University Faculty of Pharmacy and Biochemistry, Zagreb, Croatia

Chronic obstructive pulmonary disease (COPD) is one of the most prevalent human health disorders in the world. It affects about 10% of the population over the age of 40 years and accounts for 3 million deaths worldwide annually. It is estimated that COPD will be the fourth leading cause of death in 2030.

Spirometry is still “the golden standard” in COPD diagnosis. The severity of airflow limitation (assessed by forced expiratory volume in 1 second (FEV₁)) has been traditionally used to both diagnose and guide the therapy for patients with COPD. However, it has been shown that FEV₁ poorly correlates with other clinically relevant characteristics of the disease, such as symptoms (dyspnea, chronic cough, sputum production), health status, exercise capacity, frequency of exacerbations, prevalence of comorbidities, or causes of death. Therefore, FEV₁ alone does not describe the complexity of the disease, and other (bio) markers are needed in clinical practice to associate patients and significant clinical outcomes (*e.g.* risk of mortality, frequent exacerbations and/or response to adequate therapy regimes).

Cigarette smoking is the most common risk factor for COPD; however, only about 10-20% of smokers develop COPD during their lifetime. Thus, it is important to emphasize that COPD results from a gene-environment interaction. Among people with

Sve osobe istog pušačkog profila neće razviti bolest zbog različite genske predispozicije. Stoga se smatra da abnormalan upalni odgovor na cigaretni dim potiče razvoj KOPB-a kod osjetljivih osoba.

Najbolje proučen genski rizični čimbenik jest značajan nasljedni manjak alpha-1 antitripsina (AAT), koji se naziva i $\alpha 1$ proteaznim inhibitorom ($\alpha 1$ -Pi) te SERPINA1 (inhibitor serinskih proteaza, skupina A, 1. član), a koji je glavni inhibitor serinskih proteaza u krvi. Ipak, samo 1-2% bolesnika s KOPB-om nasljeđuje ovaj manjak ATT-a; stoga se smatra da neki drugi geni utječu na pojavnost i/ili razvoj bolesti. Geni kandidati u KOPB-u uključuju gene čiji proteinski produkti utječu na proteazno-antiproteaznu ravnotežu, upalne gene i antioksidacijske gene.

Osim istraživanja gena kandidata, provedeno je i nekoliko istraživanja cijeloga genoma (GWAS) te istraživanja genske ekspresije kako bi se prepoznali geni i molekularni putovi uključeni u patogenezu KOPB-a.

KOPB je heterogena bolest i markeri bolesti mogu se razlikovati u različitim fenotipovima KOPB-a. Podaci dobiveni u istraživanjima genoma mogli bi doprinijeti prepoznavanju specifičnih podskupina bolesnika. U predavanju će biti govora o dosadašnjim genskim istraživanjima i o budućnosti molekularne dijagnostike KOPB-a koja bi uključivala integrirani pristup.

e-adresa: lrumora@pharma.hr

the same smoking history, not all will develop COPD due to differences in genetic predisposition to the disease. This has led to the concept that an abnormal inflammatory response to cigarette smoking is responsible for the development of COPD in the susceptible individual.

The genetic risk factor that is best documented is a severe hereditary deficiency of alpha-1 antitrypsin (AAT), also named $\alpha 1$ proteinase inhibitor ($\alpha 1$ -Pi) and SERPINA1 (serine protease inhibitor, group A, member 1), which is the major circulating inhibitor of serine proteases. However, only 1-2% of patients with COPD inherit this ATT deficiency; hence other genes are believed to play a role in most COPD cases. Genes involved in the protease/antiprotease balance, inflammatory genes and antioxidant genes were proposed and explored as COPD candidate genes.

In addition, several genome-wide association studies (GWAS) were performed as well as gene expression studies in order to discover genes and molecular pathways involved in COPD pathogenesis.

COPD is a heterogeneous disease with many comorbid and confounding conditions, and markers of disease may vary from one phenotype to another. The use of genomic data to direct or validate the subtyping of COPD is an area of interest.

The lecture will discuss the genetic studies to date and future directions of molecular diagnostics in COPD with integrative approach.

e-mail: lrumora@pharma.hr

S6 - Predanalitička faza laboratorijskog rada

S6-1

Sigurnost laboratorijskih djelatnika: profilaksa nakon ubodnih incidenata

Zorica Šumarac

Centar za medicinsku biohemiju, Klinički centar Srbije, Beograd, Srbija

Radnici u zdravstvu su u odnosu na opštu populaciju, pod većim rizikom od izlaganja infektivnim bolestima, koje se prenose putem krvi i drugih telesnih tečnosti. Profesionalna izloženost podrazumeva ri-

S6 - Preanalytical phase

S6-1

Laboratory staff safety: Prophylactic procedures after sharp injuries

Zorica Šumarac

Centre for Medical Biochemistry, Clinical Centre of Serbia, Belgrade, Serbia

Health care workers compared to the general population, are at greater risk of exposure to infectious diseases that are transmitted through blood and other body fluids. Occupational exposure entails a risk of

zičan kontakt zdravstvenih radnika sa potencijalno infektivnim biološkim materijalom. Prevencija profesionalnih, krvoprenosivih infekcija, prvenstveno virusima HBV, HCV i HIV, kod radnika u zdravstvu obuhvata primenu nespecifične preekspozicione profilakse koja uključuje primenu standardnih mera zaštite u svakodnevnom radu, specifičnu preekspozicionu profilaksu obaveznom vakcinacijom protiv akutnog virusnog hepatitisa B i primenu postupaka postekspozicione profilakse. S obzirom na značajnost prevencije transmisije krvoprenosivih patogena svaka zdravstvena ustanova treba da ima jasno definisanu proceduru postekspozicione profilakse, koja treba da ima kategorizaciju hitnog postupka. Postekspoziciona profilaksa podrazumeva skup mera kojima se smanjuje mogućnost transmisije krvoprenosivih patogena, putem krvi i telesnih tečnosti, kod lica kod kojih je došlo do izloženosti potencijalno infektivnom biološkom materijalu. U sklopu primene mera postekspozicione profilakse, početni korak je pružanje prve pomoći izloženom radniku i tretiranje mesta ekspozicije. Sledeći postupak obuhvata prijavljivanje profesionalne ekspozicije epidemiološkoj službi zdravstvene ustanove ili najbližem Institutu za javno zdravlje, uz evidentiranje podataka o: vakcinalnom statusu izloženog radnika, načinu nastanka i vrsti povrede, predmetu koji je izazvao ekspoziciju, izloženom delu tela, vrsti potencijalno infektivnog biološkog materijala, okolnostima koje su dovele do izlaganja i dr. Procena rizika od infekcije pored kliničke i epidemiološke evaluacije obuhvata i serološko ispitivanje pacijenta-izvora infekcije i eksponiranog radnika. U tu svrhu neophodno je u skladu sa Zakonom o pravima pacijenata informisati pacijenta-izvora i tražiti saglasnost za utvrđivanje njegovog HBV, HCV i HIV statusa.

Ukoliko pacijent-izvor odbije testiranje ili nije dostupan, epidemiološka služba podatke značajne za procenu rizika dobija iz medicinske dokumentacije pacijenta-izvora. Ukoliko je pacijent-izvor nepoznat, podaci značajni za procenu rizika za HBV, HCV i HIV infekciju dobijaju se na odeljenju na kome je došlo do ekspozicije (učestalost HBV, HCV i HIV pacijenata na odeljenju, učestalost pacijenata koji koriste droge i ostalo). Nakon evaluacije ekspozicijskog incidenta, epidemiolog procenjuje rizik za transmisiju krvoprenosivih infekcija i upućuje radnika na imunizaciju i/ili virusološku dijagnostiku i zdravstveni pregled kod infektologa. Postupak postekspozicione profi-

health workers contact with potentially infectious biological materials. Prevention of occupational blood-borne infections in health care workers, especially viral HBV, HCV and HIV includes the application of non-specific pre-exposure prophylaxis which involves the use of standard precautionary measures in daily work, specific pre-exposure prophylaxis by compulsory vaccination against acute viral hepatitis B and the application of post-exposure prophylaxis procedures. Given the importance of prevention of transmission of blood-borne pathogens, every health care institution should have a clearly defined procedure of post-exposure prophylaxis, which should have a categorization of the emergency procedure. Post-exposure prophylaxis includes a set of measures to reduce the chance of transmission of blood-borne pathogens by blood and body fluids in the persons who have been exposed to potentially infectious biological material. As part of the implementation of post-exposure prophylactic measures, the first step is to provide first aid to the exposed worker and treatment of the exposure site. The following procedure includes reporting of occupational exposure to the Department of Epidemiology in Health Institution or the nearest Public Health Institute, along with recording data on the vaccination status of the exposed worker, mode of occurrence and type of injury, the object that caused the exposure, the exposed part of the body, the type of potentially infectious biological material, circumstances which led to the exposure etc. Assessment of the risk of infection in addition to clinical and epidemiological evaluation includes serological testing of the patient-infection source and the exposed health care worker. For this purpose it is necessary in accordance with the Law on the patients' rights to inform the patient-infection source and seek approval for the determination of their HBV, HCV and HIV status. If the source patient refuses testing or is not available, Department of Epidemiology obtains information relevant to risk assessment from the source patient's medical records. If the source patient is unknown, the data relevant to the assessment of risk for HBV, HCV and HIV infection are obtained from the department in which the exposure occurred (incidence of HBV, HCV and HIV patients in the ward, incidence of patients who use drugs, etc.). After evaluation of the exposure incident, an epidemiologist evaluates the risk of transmission of the blood-borne infection and refers workers to immunization

lakse protiv hepatitisa B zavisi od vakcinalnog statusa i imunog odgovora izloženog radnika. Na osnovu rezultata virusoloških ispitivanja uzoraka krvi izloženog radnika i pacijenta-izvora (ukoliko je primenljivo) infektolog donosi odluku o lečenju i daljoj primeni postekspozicione profilakse.

Postekspoziciona profilaksa HBV infekcije podrazumeva primenu HBV vakcinacije i specifičnog hepatitisa B imunoglobulina. Trenutno nema dostupne profilakse HCV infekcije, pa postekspoziciona profilaksa podrazumeva samo serološko praćenje eksponiranog radnika. Za profilaksu nakon profesionalne ekspozicije HIV pozitivnoj krvi, preporučuje se primena antiretrovirusnih lekova, na osnovu vodiča za lečenje, koji utvrđuje stručni tim infektologa. Služba za epidemiologiju prati i evidentira celokupan postupak dijagnostike, lečenja i kliničkog stanja izloženog radnika.

Cilj proceduralnog definisanja postupaka postekspozicione profilakse u zdravstvenim ustanovama je omogućavanje pravovremene zaštite izloženih radnika, upravljanje sistemom nadzora, prijavljivanja i izveštavanja, uspostavljanje integrisanog pristupa za procenu rizika i sprečavanje uticaja faktora rizika koji dovode do ekspozicije, unapređenje bezbednih uslova rada i primena standardnih mera predostrožnosti, kako bi se smanjila učestalost izlaganja radnika u zdravstvu potencijalno infektivnom biološkom materijalu.

e-adresa: zsumarac@gmail.com

S6-2

Racionalizacija u okviru pre-predanalitičke faze

Dunja Rogić

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

Pressure on health care systems to reduce expenses, with the same or improved quality of service and

and/or viral diagnostics and medical examination by an infectious disease specialist. The process of post-exposure prophylaxis against hepatitis B depends on the vaccination status and immune response of the exposed worker. Based on the results of virological testing in blood samples of the exposed worker and the source patient (if applicable), an infectious disease specialist decides on the treatment and further implementation of post-exposure prophylaxis. Post-exposure prophylaxis for HBV infection includes application of HBV vaccination and specific hepatitis B immune globulin. At the moment, there is no specific prophylaxis available for HCV infection. Therefore, post-exposure prophylaxis includes only subsequent serologic testing of the exposed worker. For the prophylaxis after occupational exposure to HIV-positive blood, antiretroviral agents are recommended, based on the treatment guidelines developed by a team of infectious disease specialists. The Department of Epidemiology monitors and records the entire process of diagnosis and treatment, as well as the clinical condition of the exposed worker. The objectives of defining procedural actions for post-exposure prophylaxis in health care institutions are to enable timely protection of exposed workers, efficient management of the supervisory, monitoring, and reporting systems, establishment of an integrated approach for risk assessment and prevention of the impact of risk factors leading to exposure, improvement of safe working conditions and use of standard precautions, in order to reduce the incidence of exposure of health care workers to potentially infectious biological materials.

e-mail: zsumarac@gmail.com

S6-2

Rationalization at the level of pre-preanalytical phase

Dunja Rogić

Department of Laboratory Diagnostics, University Hospital Center Zagreb, Zagreb, Croatia

Pressure on health care systems to reduce expenses, with the same or improved quality of service and

te dodatni istovremeni rast broja bolesnika zbog sve duljeg očekivanog životnog vijeka zajedno čine nazgled nerješiv paradoks. Laboratorijska medicina u tom smislu ne predstavlja izuzetak, dapače nerijetko se upravo u tom području nastoje postići značajne uštede, usprkos prosječnom rastu broja traženih pretraga na globalnoj razini za oko 5-10% godišnje. Pritom ne treba zaboraviti da laboratorijska medicina čini vrlo mali postotak ukupnog zdravstvenog troška (u većini zemalja ispod 5%) te da su zbog toga sve intervencije u smislu ušteda na razini cijelog sustava relativno ograničene, ali nipošto nedostižne ili besmislene. Dva su moguća međusobno komplementarna pristupa uštedama u laboratorijskoj medicini. Prvi je ekonomski - na razini postizanja najpovoljnije nabavne cijene potrebnih reagenasa odnosno uređaja, što se postiže jedino transparentnim otvorenim javnim nadmetanjima, uz kvalitetnu specifikaciju. Drugi pristup se odnosi na modifikaciju dostupnosti laboratorijskih pretraga sukladno važećim smjernicama i spoznajama medicine temeljene na dokazima. Naime, neosporno je da bi se korištenje laboratorijskih pretraga od strane kliničara moglo dodatno optimirati i racionalizirati, ne samo zbog smanjenja troškova, već i zbog učinkovitije kliničke skrbi, u smislu racionalne dijagnostike i odgovarajućeg praćenja terapije. Ključno je napomenuti da optimiranje ne znači uvijek smanjenje broja traženih pretraga, već može značiti i usmjeravanje na one pretrage koje unutar određenog kliničkog konteksta imaju veću prediktivnu vrijednost. Uloga laboratorijskih stručnjaka u ovom je procesu nezamjenjiva. Prije svega treba na sve dostupne načine poticati edukaciju i dijalog između laboratorija i klinike, što je nužan ali ne i dovoljan uvjet za promjene. Kako bi do njih zaista došlo, neophodno je istovremeno djelovati i na administrativnoj razini, u smislu modifikacije sučelja putem kojeg se pretrage naručuju, s obzirom da je proces zadavanja laboratorijskih pretraga nerijetko sasvim rutinski i ulazi u opis poslova medicinske sestre ili tehničara. Međutim, nije jednostavno uvoditi promjene dostupnosti laboratorijskih pretraga bez poznavanja kliničke situacije, te se zbog toga pritom nužno jednakomjerno osloniti kako na literaturne podatke, tako i na mišljenje relevantnih kliničara specijalista, pri čemu može doći do značajnih razmišljanja na koja svakako treba računati i pokušati ih argumentirano rješavati. Eventualne nejasnoće o kliničkoj koristi pojedine pretrage najčešće se mogu

additional concurrent increase in the number of patients due to ever longer life expectancy, together make an apparently unsolvable paradox.

In this respect, laboratory medicine is not an exception but very often the field where attempts at significant cost-cutting are made in spite of an average annual 5-10% growth in requested tests at global level. At this point, it is necessary to emphasize that laboratory medicine participates in total health care expenses with very low percentage (in most countries below 5%) and that all interventions to economize are relatively limited at the level of the entire system, yet in no manner unachievable or pointless. There are two possible mutually complementary approaches to economize in laboratory medicine. The first is economical - at the level of achieving the most favorite procurement price for necessary reagents and instruments, which is attained only through transparent open tenders and high quality specifications. The second approach is related to modification of the availability of laboratory tests in line with applicable guidelines and data provided by evidence-based medicine. Actually, the use of laboratory tests by clinicians could undoubtedly be additionally optimized and rationalized not only with a view of reducing costs but also to achieve more effective clinical care in terms of rational diagnostics and adequate therapy monitoring. It is crucial to state that optimization does not always mean reduction in the number of requested tests, but may also involve orientation to those lab tests that have high predictive value within a certain clinical context. The role of laboratory professionals in this process is irreplaceable. Above all, education and dialogue between laboratory and clinics should be encouraged in all manners possible as this is a requisite but not sufficient precondition for changes. If these changes are really to occur, it is necessary to act also at administrative level and modify the interface used to request laboratory tests. This should be done because the process of ordering lab tests is not so infrequently performed rather routinely and is part of nurses' job description. However, it is not simple to introduce changes in availability of lab tests without being familiar with clinical situation; we should therefore equally rely on both literature data and opinion of relevant clinical specialists and be by all means ready to encounter significant disagreements, with attempts to solve them using valid ar-

se razjasniti direktnom komunikacijom, a kompletan panel pretraga može i treba nadalje ostati na raspolaganju, pri čemu jedinu promjenu čini uvođenje nužnosti minimalnog svjesnog napora pri naručivanju. Iako su cijene pojedinačnih pretraga male, tijekom duljeg vremenskog razdoblja na ovaj se način postižu značajne uštede. Osim vrste traženih pretraga, moguće je intervenirati i u smislu njihove učestalosti, pri čemu je to optimalno učiniti upravo na pre-predanalitičkoj razini, kako bi se spriječilo nepotrebno uzorkovanje. Ovakve intervencije koje bi trebale trajno i samoinicijativno poticati upravo iz laboratorija bez iščekivanja da ih zatraži bilo tko drugi, smanjuju nepotrebni trošak, uzaludan rad i isprazno konzumiranje laboratorijskih usluga istovremeno otvarajući prostor uvođenju novih pretraga relevantnih za kliničku skrb.

e-adresa: dunjarogic@hotmail.com

guments. Possible issues about clinical benefit of an individual test can be explained by direct communication while complete test panel can and should still remain available: the only change introduced is the need for minimum conscious effort in lab test ordering. Although the costs of individual tests are low, considerable cost savings are achieved in this way during a prolonged time period. In addition to the type of lab tests, it is possible to intervene in terms of their frequency, which is optimally performed at pre-preanalytical level to prevent unnecessary sampling. Initiative for such interventions should be continuously arising from laboratory, without expecting somebody else to demand them, as they reduce unneeded costs, useless labor and futile consumption of laboratory services, and at the same time make room for introduction of new laboratory tests that are relevant for clinical care.

e-mail: dunjarogic@hotmail.com

S6-3

Jesu li uzorci 24-satnog urina pravilno skupljeni?

Željko Debeljak

Odjel za kliničko laboratorijsku dijagnostiku, Klinički bolnički centar Osijek, Osijek, Hrvatska

Skupljanje uzoraka 24-satnog urina je još uvijek nezaobilazni dio brojnih dijagnostičkih postupaka poput dijagnostičke obrade Wilsonove bolesti, Addisonove bolesti i karcinoida. U najvećem broju slučajeva skupljanje provode sami bolesnici bez nadzora educiranog osoblja. Stoga većina laboratorija daje bolesnicima pisana uputstva za skupljanje uzoraka 24-satnog urina. Ipak, preporučeni postupci skupljanja su zahtjevni i podrazumjevaju visoku motiviranost bolesnika što često nije slučaj pa odstupanja od uputstava dovode do nepouzdanog prikupljanja uzoraka.

Različiti čimbenici mogu kompromitirati integritet uzoraka 24-satnog urina. Čak i kad se bolesnici striktno pridržavaju pisanih uputstava čimbenici poput posuda za skupljanje, konzervansa, nepoznatih in-

S6-3

24-hour urine samples: are they properly collected?

Željko Debeljak

Department of Clinical Laboratory Diagnostics, Clinical Hospital Center Osijek, Osijek, Hrvatska

Collection of 24-hour urine samples is still indispensable part of numerous diagnostic procedures like Wilson's disease, Addison's disease and carcinoid diagnostic work up. In most instances it is done by patients without the supervision of educated personnel. Therefore most laboratories provide patients with written instructions for 24-hour urine collection. However, suggested collection procedures are tedious and require high degree of patients' compliance which reflects in unreliable daily urine collection.

Different factors may compromise the integrity of 24-hour urine samples. Even in situations when patients strictly adhere to written instructions factors like containers, preservatives, existence of unknown interfering substances etc may compromise inte-

terferencija i sl. mogu kompromitirati integritet uzoraka. No središnje pitanje pri skupljanju 24-satnog urina je cjelovitost odnosno točnost skupljanja što podrazumjeva skupljanje bez gubitaka svih pojedinačnih porcija urina kroz period od 24 sata.

Tijekom prethodna tri desetljeća predloženi su različiti pokazatelji točnosti skupljanja 24-satnog urina. Pokazatelji temeljeni isključivo na informacijama o skupljanju koje bolesnici sami upisuju u dnevnik skupljanja su odbačeni uslijed nerealno niskog udjela nedaekvatno skupljenih uzoraka što ima za posljedicu velik broj dijagnostičkih pogrešaka. Numerički pokazatelji točnosti skupljanja poput urinarnog izlučivanja kreatinina (UIK) i povrata (engl. *recovery*) para-aminobenzojeve kiseline (PPABK) su primjeri manje subjektivnih pokazatelja skupljanja te su stoga već duže vremena u uporabi. No, čak i numerički pokazatelji podrazumjevaju određeni stupanj suradljivosti bolesnika. U slučaju UIK to se prvenstveno odnosi na nisku fizičku aktivnost, farmakoterapiju i nizak unos mesa i mesnih prerađevina tijekom uzorkovanja. Osim toga, UIK ovisi o starosti i mišićnoj masi bolesnika što zahtjeva prilagođavanje metoda izračuna i referentnih raspona. Pouzdanost pristupa temeljenih na PPABK podrazumjeva oralni unos propisanih doza para-aminobenzojeve kiseline u odgovarajućim vremenskim intervalima. Uz to, različiti lijekovi interferiraju s određivanjem tog analita u urinu a i njegova eliminacija putem urina ovisi o dobi.

Sva navedena ograničenja dovode u pitanje nužnost uzorkovanja 24-satnog urina. Pouzdano određivanje biokemijskih pokazatelja čija dnevna fluktuacija korelira fluktuacijama kreatinina u urinu se može provoditi i u jednokratnim uzorcima. Pregled ovih analita biti će prikazan u prezentaciji. Različiti pokazatelji točnosti skupljanja 24-satnog urina potrebni za pouzdano određivanje svih ostalih urinskih dijagnostičkih pokazatelja će biti opisani i uspoređeni. Uz njih će biti ukratko prikazani i ostali čimbenici koji mogu utjecati na točnost skupljanja 24-satnog urina. Na kraju će biti prikazane preporuke za skupljanje 24-satnog urina usklađene sa trenutno dostupnim znanstvenim spoznajama.

e-adresa: zeljko.debeljak@gmail.com

grity of 24-hour urine samples. But the central issue in 24-hour urine sample collection is completeness/accuracy of collection which implies collection of all and complete portions of urine throughout the 24-hour period.

Different quality indicators of 24-hour urine collection accuracy have been proposed. Indicators that rely solely upon forms filled by patients during the collection have been disputed due to the unrealistically low fraction of inadequate samples which give rise to diagnostic errors. Numerical sampling quality indicators that are less prone to subjective judgment like urinary creatinine excretion and para-aminobenzoic acid (PABA) recovery have been used for some time. But even with numerical sampling quality indicators some degree of patient compliance is still required. In case of urinary creatinine excretion this mostly refers to physical activity, pharmacotherapy and meat intake during the sampling period. Besides, urinary creatinine excretion depends on age and muscle mass which requires reference interval and/or calculation adjustments. Reliability of PABA recovery based approaches implies oral ingestion of PABA tablets in adequate time intervals. Besides that, different drugs interfere with the urinary PABA determination and its elimination also depends on age.

All these issues raise question about the necessity of 24-hour urine collection. Analytes which daily fluctuations correlate with urinary creatinine fluctuations do not require 24-hour urine collection. Overview of these analytes will be given in the presentation. Different quality indicators of 24-hour urine sample collection needed for reliable determination of all other urinary diagnostic parameters will be described and compared. This will be followed by a brief summary of other factors that may affect 24-hour urine sample quality. Presentation will be concluded with the recommendations for 24-hour urine collection harmonized with the contemporary scientific evidence.

e-mail: zeljko.debeljak@gmail.com

S7 - Laboratorijska automatizacija

S7-1

Automatizirana mikroskopija u laboratorijskoj medicini

Giuseppe Lippi

Laboratory of Clinical Chemistry and Hematology, Academic Hospital of Parma, Parma, Italy

Laboratorijska hematologija predstavlja iznimno važan element u donošenju kliničke odluke o bolesniku s hematološkim poremećajima. Povijesno gledano, kao jedina pouzdana metoda identifikacije, brojenja i diferenciranja krvnih stanica korišten je pregled perifernih krvnih razmaza optičkim mikroskopom. No, ova metoda oduzima vrijeme i za njeno izvođenje potrebne su osobite vještine, a također podliježe velikom stupnju netočnosti između više promatrača i samog promatrača. U posljednjih nekoliko desetljeća dostupna je novija generacija hematoloških analizatora, koji sada omogućuju brzu, točnu i preciznu identifikaciju i brojanje krvnih stanica, čime se prevladavaju mane mikroskopske analize.

Nedavni tehnološki napredci omogućili su razvitak i implementaciju automatiziranih sustava slikovne analize, koji se mogu i fizički spojiti na hematološke analizatore. Ukratko, ovaj specifičan instrument osmišljen je kako bi se automatski izradili krvni razmazi (kapljica krvi se uklješti između dva stakla i oboji) u skladu s korisnički prilagođenim kriterijima dobivenim iz kompletne krvne slike, poslikao razmaz (slika obično obično odgovara povećanju objektiva $\times 100$), i pripremile digitalne slike krvnog razmaza na velikom povećanju. Ove slike se potom analiziraju umjetnim neuronskim mrežama i u skladu s proizvođačevom bazom podataka krvnih elemenata koja se može prilagoditi i nadograditi prema zahtjevima korisnika. U slučaju da je potrebna dodatna analiza i reklasifikacija krvnim elemenata, slike se također mogu prenijeti i prikazivati na zaslonima računala smještenim na različitim udaljenostima od same. Za još precizniju reklasifikaciju, korisnik može uvećati cijelu sliku ili uvećati pojedinačne dijelove slike kako bi dobio točniji izgled, prihvatio i zadržao prvotnu kategorizaciju ili pomakno pojedini elementi u drugu kategoriju.

S7 - Laboratory automatization

S7-1

Automated microscopy in laboratory medicine

Giuseppe Lippi

Laboratory of Clinical Chemistry and Hematology, Academic Hospital of Parma, Parma, Italy

Laboratory hematology represents an essential part of the clinical decision making in patients with hematological disturbances. Historically, the only reliable approach for identification, enumeration and sizing of blood cells has been represented by optical microscopy of peripheral blood smears. Nevertheless, this practice was inherently time consuming and required peculiar skills, also being plagued by a remarkable degree of inter- and intra-observer inaccuracy. In the past decades a newer generation of hematological analyzers has become available, which now allow a rapid, accurate and precise identification and enumeration of blood cells, thus overcoming the inherent shortages of microscopic analysis. Recent technological advances have also allowed to develop and introduce automated image analysis systems that can be physically connected to the hematological analyzers. In brief, this specific instrumentation is designed to automatically prepare blood films (i.e., wedging on a glass slide staining) according to customized criteria obtained from the complete blood count, scan the slides (usually corresponding at a picture of $\times 100$ objective), and finally prepare digital images of blood smears at higher magnification. These images are then analysed by artificial neural networks according to a manufacturer's provided database of blood elements, which can be customized and updated by the local users. The images can also be transmitted and displayed on computer screens, which can be placed at various distances from the scanner, for analysis and possible reclassification of blood elements. In particular, the operator can magnify the image and enlarge single sections of the scan to obtain a more accurate view, accept and maintain the actual categorization, or shift individual elements to another category, for a more precise reclassification. The feature originally

Izvedba slike s automatiziranog sustava slikovne analize omogućuje klasifikaciju bijelih krvnih stanica (BKS) u standardne elemente (BKS diferencijalne, nesegmentirani ili segmentirani neutrofilii) i atipične leukocite (nezrele stanice, blasti, varijantni oblici limfocita i plazma stanica). Na nalazu generiraju se dodatne informacije o morfologiji eritrocita i trombocita, uključujući polikromaziju, hipokromiju, anizocitozu, mikrocitozu ili makrocitozu, poikilocitozu, srpaste stanice, stanice u obliku suze, šizocitozu, sferocitozu, eliptocitozu, ovalocitozu, stomatocitozu, akantocitozu, echinocitozu, velike pločice, agregacije trombocita, itd. Najnoviji dokazi potvrđuju da nova generacija automatskih sustava slikovne analize daje podatke koji visoko koreliraju s onima optičkog mikroskopa, te je stoga primjenjiva na veliku većinu analiza krvnih razmaza u svakodnevnoj praksi. Zanimljivo, ovaj pristup ne samo da štedi vrijeme tehničkom osoblju i poboljšava laboratorijski rad, već je također učinkovit za optimizaciju i identifikaciju patoloških i sumnjivih hematoloških nepravilnosti koje mogu biti prisutne u niskoj frekvenciji, jer promjene mogu biti učinkovite prikazane na zaslonu.

e-mail: glippi@ao.pr.it

S7-2

Automatizacija predanalitičke faze laboratorijskog rada

Marijana Miler

Klinički zavod za kemiju, Klinički bolnički centar Sestre milosrdnice, Zagreb, Hrvatska

Greške u predanalitičkoj fazi obuhvaćaju čak 60-70% pogrešaka u ukupnom procesu obrade uzoraka. Smanjivanje učestalosti pogrešaka u predanalitičkoj fazi moguće je uvođenjem mjera poboljšanja. Prije svega, potrebno je dobro i detaljno unaprijed definirati sve procese i postupke u radu s uzorcima. Također, potrebno je provoditi kontinuiranu edukaciju osoblja koji te procese i postupke trebaju slijediti. Ostvarenje unaprijed definiranih koraka i kriterija potrebno je

provided by automated image analysis systems enable the classification of white blood cells (WBCs) in normal elements (i.e., WBC differential, band or segmented neutrophils), as well as in atypical leukocytes (i.e., immature cells, blasts, variant form lymphocytes and plasma cells, smudge cells). Additional information about erythrocyte and platelet morphology can be generated, including polychromasia, hypochromia, anisocytosis, microcytosis or macrocytosis, poikilocytosis, sickle cells, helmet cells, teardrop cells, schizocytosis, spherocytosis, elliptocytosis, ovalocytosis, stomatocytosis, acantocytosis, echinocytosis, large platelets, platelet aggregation, etc.

Recent evidence attests that this novel generation of automated image analysis systems provides data that are highly correlated with those of optical microscopy, and is hence applicable to the vast majority of blood smears analysis in daily practice. Interestingly, this approach not only reduces technical staff time and improves laboratory workout, but is also effective to optimize the identification of pathological and spurious hematological abnormalities that may be present at low frequency, since the alterations can be more efficiently displayed on the screen.

e-mail: glippi@ao.pr.it

S7-2

Automatization of the preanalytical phase

Marijana Miler

University Department of Chemistry, Clinical Hospital Center Sestre milosrdnice, Zagreb, Croatia

Even 60-70% of laboratory errors in total testing process (TTP) belong to the preanalytical phase. The frequency of errors in preanalytical phase could be reduced with measures of improvement. All laboratory processes and procedures should be precisely defined and the continuing education of laboratory personnel should be available. It is also important to define quality indicators for monitoring the quality of samples and processes in the laboratory.

pratiti u obliku indikatora kvalitete. Jedna od ključnih metoda kojom se u laboratoriju može povećati učinkovitost predanalitičke faze i smanjiti broj pogrešaka je uvođenje automatizacije u predanalitičku fazu.

Postoje dvije vrste sustava automatizacije u predanalitičkoj fazi. Manji, modularni sustav automatizacije (engl. *modular laboratory automation*, MLA) obuhvaća manji broj analizatora kojima je automatiziran samo dio postupaka i procesa u laboratoriju. Totalna laboratorijska automatizacija (engl. *total laboratory automation*, TLA) ima više različitih jedinica i automatizacijom je obuhvaćena cijela predanalitička, analitička te dio poslijeanalitičke faze u laboratorijskim postupcima. TLA se može sastojati od jedinice za očitavanje bar kodova na uzorcima, prepoznavanje vrste epruveta, centrifugiranje uzoraka, očitavanje volumena uzoraka unutar epruveta, odčepijivanje epruveta, tračnog sustava za prijenos uzoraka od ulazne jedinice do analizatora te jedinice za alikvotiranje i spremanje uzoraka. Glavni cilj automatizacije predanalitičke faze je osigurati pouzdane i točne informacije za liječnike i pacijente te ubrzati i pojednostavniti procese u laboratoriju. Sustavi automatizacije predanalitičke faze omogućavaju optimizaciju procesa u laboratoriju i standardizaciju postupanja s uzorcima. Uvođenjem automatiziranih sustava smanjuje se i radni prostor unutar laboratorija u kojem se nalaze analitički sustavi te površina radnih mjesta potrebnih za ručnu procjenu kvalitete uzoraka. Totalnom laboratorijskom automatizacijom povećava se produktivnost i učinkovitost laboratorija i laboratorijskog osoblja, a smanjuju se pogreške koje mogu nastati prilikom transporta uzoraka od upisa preko centrifugiranja i na kraju do prijenosa do analizatora. Automatizacijom se smanjuje vrijeme do izdavanja rezultata i povećava sigurnost laboratorijskog osoblja jer je smanjen direktni kontakt s uzorcima.

Svaki laboratorij odabire automatizirani sustav koji odgovara njegovim individualnim potrebama, a prema unaprijed određenim kriterijima.

Mnogi proizvođači imaju različita rješenja za automatizaciju predanalitičke faze u laboratorijskom radu i svaki od njih može imati različite podjedinice i analizatore, a razlikuju se i ovisno o broju uzoraka koji se mogu obraditi unutar sat vremena te koliki je udio procesa u laboratoriju automatiziran.

Ovo predavanje prikazat će prednosti i mane modularnog sustava automatizacije i totalne laboratorijske automatizacije te koje su dobrobiti za laboratorij i laboratorijsko osoblje prilikom uvođenja automatizacije u predanalitičku fazu.

e-adresa: marijana.miler@gmail.com

The automatization of preanalytical phase is one of the key methods for increasing the efficiency and reducing the number of errors in preanalytical phase. There are two types of automation systems available in preanalytical phase. Modular laboratory automation (MLA) includes only a few analyzers and laboratory processes and procedures are partly automated. In total laboratory automation (TLA) entire preanalytical, analytical and postanalytical phase in laboratory is automated. TLA has various analyzers and units that may consist of barcode readers, unit for identifying types of test tubes, centrifuges, decapper, track system for samples transport from the input unit to the analyzer, aliquoter and storage unit. The main goal of automatization of the preanalytical phase is to ensure reliable and accurate results for physicians and patients reduce time consumption and simplify processes in the laboratory. Laboratory automatization system enables optimization and standardization of procedures in laboratory.

The implementation of automated system reduces the workplace area for different analyzers and manual detection of sample quality. Total laboratory automation increases the productivity and efficiency of laboratory and personnel. TLA reduces number of errors that can occur during the transport or manual handling of samples. TLA also reduces the turnaround time and direct contact of personnel with the samples which enhances the safety of laboratory personnel.

Each laboratory should select an automated system that will fulfill their predefined criteria.

Many manufacturers have different solutions for automatization of preanalytical phase and each of them may have different analyzers and units and sample workload.

This lecture will provide the advantages and disadvantages of the modular automation systems and total laboratory automation. Also, it will review all benefits for the laboratory and personnel regarding to the automatization of the preanalytical phase.

e-mail: marijana.miler@gmail.com

S7-3

Autovalidacija u kliničkom laboratoriju

Željka Vogrinc, Vladimira Rimac, Dunja Rogić

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

Suvremeni klinički laboratoriji moraju svakodnevno odgovarati na izazove kao što su povećanje kvalitete usluga, pojednostavljivanje procesa, smanjenje potrebe za radnom snagom, te skraćivanje vremena od zaprimanja uzoraka do izvještavanja o rezultatima pretraga (engl. *turnaround time*; TAT). Istovremeno, broj zahtjeva za pretragama koje traži kliničko osoblje u stalnom je porastu. Jedan od načina podizanja učinkovitosti laboratorija, uz uvođenje automatizacije i razvoj laboratorijskog informacijskog sustava (LIS), je primjena autovalidacije. Autovalidacija podrazumijeva postupak poluautomatske selekcije, validacije i izdavanja rezultata pretraga korištenjem LIS-a uz prethodno strogo definirane kriterije. To znači da se rezultati pretraga koji zadovolje postavljene kriterije nakon pokretanja postupka autovalidacije izdaju automatski, bez provjere laboratorijskog osoblja. Autovalidacija time s jedne strane osigurava manju opterećenost i zamor osoblja proizročen pregledom velikog broja rezultata, a s druge strane omogućava da se pažnja usmjeri na manji broj potencijalno problematičnih uzoraka i rezultata. Primjeni autovalidacije u rutinskom radu prethodi postavljanje kriterija za autovalidaciju, definiranje vrijednosti za pojedini kriterij za svaku pretragu koja se planira uključiti u autovalidaciju, te na kraju validacija postavljenih kriterija.

U Kliničkom zavodu za laboratorijsku dijagnostiku KBC Zagreb autovalidacija se u rutinskom radu provodi za pretrage opće kliničke biokemije od srpnja 2014. godine. Sve navedene pretrage izvode se na biokemijskim analizatorima cobas 6000 i cobas c501 tvrtke Roche Diagnostics, a u autovalidaciju je uključeno 30 pretraga iz seruma i plazme. Analizatori su međusobno povezani informacijskim sustavom Middleware tvrtke Roche Diagnostics, a za obradu i izdavanje rezultata pretraga u laboratoriju se koristi LIS BioNET tvrtke IN2.

Jedan od najvažnijih koraka u procesu uvođenja autovalidacije u našem laboratoriju bilo je postavljanje kriterija prihvatljivosti rezultata. Tijekom postavlja-

S7-3

Autovalidation in clinical laboratory

Željka Vogrinc, Vladimira Rimac, Dunja Rogić

Department of Laboratory Diagnostics, Clinical Hospital Centre Zagreb, Zagreb, Croatia

Modern clinical laboratories must respond to daily challenges such as increasing the quality of services, streamlining processes, reducing labor requirements and shortening the time from receipt of samples to reporting the results of analyses (*turnaround time*; TAT). At the same time, the number of requests required by clinical staff is steadily increasing. One way of raising the efficiency of laboratories, besides automatisisation and the development of a laboratory information system (LIS), is the application of autovalidation. Autovalidation is a procedure of semi-automatic selection, validation and reporting of test results using the LIS under previously strictly defined rules. This means that the test results that meet the set autovalidation rules are issued automatically, without manual human intervention. Autovalidation can greatly reduce manual review time and effort by laboratory staff, limiting burden and fatigue of personnel caused by examination of a large number of results, and allows them to focus attention on a small number of potentially problematic samples and results. Before application of autovalidation in routine, it is necessary to set qualifying rules for autovalidation, define values for each rule, and finally to validate the selected rules. In the Department of Laboratory Diagnostics, University Hospital Centre Zagreb, autovalidation in clinical biochemistry has been routinely carried out since July 2014, and included 30 tests in serum and plasma. All tests included in autovalidation are performed on biochemical analyzers from Roche Diagnostics and the analyzers were interfaced to LIS via Roche Middleware Instrument Manager. The LIS used for processing and reporting of test results in our laboratory is Bionet from IN2 company. One of the most important steps in the process of implementation of autovalidation in routine work was the establishment of validation rules. The rules were set by a team of specialists from our laboratory with the approval of the department head, and tested on 9805 patients. Autovalidation rules were

nja kriterija za autovalidaciju testirano je 9805 pacijenata, a kriterije je postavio tim specijalista iz našeg laboratorija uz odobrenje predstojnika. Kriteriji za autovalidaciju podijeljeni su u dvije skupine. U prvoj skupini su tzv. obavezni kriteriji koji se odnose na sve pretrage, a uključuju poruke upozorenja s uređaja (npr. prisutnost ugruška, dostupna količina uzorka, vrijednost serumskog indeksa), zatim granice linearnosti testa, kritične vrijednosti za pojedinu pretragu, te usporedbu rezultata određene analize s prethodnim rezultatima (engl. *delta check*). Drugu skupinu čine dodatni kriteriji koji su povezani samo s pojedinim pretragama (npr. mjerenje LDL-a kod visokih koncentracija triglicerida). Svi podaci o kriterijima za autovalidaciju upisani su u BioNET Data Entry, što je ujedno i glavni alat za postavljanje pravila za autovalidaciju. Prije primjene postupka autovalidacije u praksi, provedena je validacija svakoga pojedinog kriterija i to usporednim pregledom svih ručno validiranih rezultata s rezultatima koji su autovalidirani kroz testnu bazu BioNET LIS. Rezultati validacije kriterija za autovalidaciju pokazali su da je 78,3% ispitivanih uzoraka zadovoljilo postavljena pravila, a podudarnost postupka autovalidacije i osobe koja je provodila ručnu validaciju iznosila je 99,5%. Analizom podataka χ^2 -testom utvrđeno je da nema statistički značajne razlike ($P=0,523$) u broju uzoraka koji su bili autovalidirani (7677) u odnosu na one koje je validirao medicinski biokemičar (7639). Na temelju dobivenih rezultata bilo je moguće započeti primjenu autovalidacije u rutinskom radu. Primjenom autovalidacije u našem laboratoriju skratio se TAT, smanjio broj pogrešnih nalaza i povećala konzistentnost rezultata.

e-adresa: zvogrinc@kbc-zagreb.hr

divided into two groups. The first group comprised the rules that were applied to all test results, and included warning messages from the device (e.g., presence of a clot, available sample, serum index values), the linearity limits of the test, critical values for a particular search, and the comparison of results for specific analysis with previous results (delta check). The second group of rules included additional criteria that are applied only in some specific tests (e.g., measurement of LDL in high concentrations of triglycerides). All autovalidation rules were entered through LIS Bionet Data Entry, and tested individually and in combination. Validation of autovalidation rules showed that 78.3% of samples met the established rules and the compatibility of autovalidation and manual validation was 99.5%. According to these results, it was possible to start autovalidation in routine practice. Our experience with autovalidation showed that autovalidation shortens the TAT, reduces the number of incorrect findings and increases the consistency of results.

e-mail: zvogrinc@kbc-zagreb.hr

S8 – Biostatistika

S8-1

Snaga studije i veličina uzorka: koliko veliki uzorak uistinu trebamo?

Mary McHugh

Dean of Nursing, Angeles College, Los Angeles, California, USA

Određivanje potrebne veličine uzorka ključ je uspješnog istraživanja. Mnogi istraživači strahuju od izračuna veličine uzorka koji je potreban za njihovo istraživanje. Štoviše najčešće ne razumiju na koji se način veličina uzorka odnosi na vjerojatnost uspjeha njihovog istraživanja. Osim veličine značajne razlike, homogenosti populacije i snage statističkog testa za testiranje hipoteze, veličina uzorka četvrti je ključni kriterij za postizanje značajnog rezultata istraživanja. Veličina značajne razlike jest ono što istraživač pokušava dokazati. Stoga, istraživač ne smije i ne može utjecati i kontrolirati veličinu značajne razlike. Homogenost populacije jedna je od osnovnih značajki populacije i time nije pod kontrolom istraživača u medicinskim istraživanjima. Snaga statističkog testa odnosi se na upotrebu parametrijskih naspram neparametrijskih testova čiji izbor ovisi o vrsti podataka i istraživanoj hipotezi. Jedini ključni kriterij na koji je moguće utjecati jest veličina uzorka. Upravo je manipulacija veličinom uzorka moćni istraživačev mehanizam za postizanje statističke značajnosti u istraživanju. Analiza snage studije predstavlja statistički način za utvrđivanje minimalne veličine uzorka potrebne za dokazivanje statistički značajne razlike između istraživane i kontrolne skupine ukoliko razlika uistinu postoji u proučavanoj populaciji. Uzorak mora biti dovoljno velik da bi se postigla statistička značajnost međutim uzorci veći nego što je potrebno samo povećavaju trošak istraživanja što ih čini nepotrebnim. Statistički testovi za testiranje hipoteza pretpostavljaju nasumičan odabir uzorka i nasumičnu podjelu jedinki u grupe kako bi se pouzdano procjenila vjerojatnost da uzorak uistinu dobro predstavlja populaciju iz koje je uzet. Kada je unasumičenje pošteno, a izračun snage studije točan, tada istraživač može biti siguran da će razlika prisutna u populaciji biti dokazana u istraživanju.

e-adresa: mchugh8688@gmail.com

S8 – Biostatistics

S8-1

Sample size and power analysis: how large sample do you really need?

Mary McHugh

Dean of Nursing, Angeles College, Los Angeles, California, USA

Determination of sample size is key to successful research. Many researchers, however, dread performing the task of calculating the sample size needed in their research. Even more do not understand exactly how sample size relates to the probability that their research will be successful. Sample size is one of the four keys to obtaining a significant result in research, the other three being effect size, homogeneity of the population, and the power of the statistic used to test the research hypothesis. The effect size is, at the core, what the researcher is trying to find. Therefore the researcher does not (and cannot) have any influence or control over the effect size. Homogeneity of the population is one of the essential characteristics of the population studied and thus not subject to researcher control in medical research. The power of the statistic relates to selection of parametric versus non-parametric (distribution free) statistics and that selection is dictated by the type of data and the research hypotheses. The only pillar of significance under the researcher's control is therefore sample size, and manipulation of the sample size is the researcher's most powerful tool to obtain statistical significance in research. A power analysis is a statistical procedure performed to determine the minimum sample size needed for the researcher to find a significant difference between experimental and control groups, if indeed the independent variable does produce a real difference in the population. The sample must be large enough to allow statistical significance to be achieved, but samples larger than necessary simply add to the cost of research and are therefore unnecessary. Statistics used to test hypotheses all assume random sampling and random assignment to study group in order to reliably estimate the likelihood that the sample is a good reflection of the population. When random procedures are fair, and the power analysis has been correctly performed, the researcher may have great confidence that real differences in the population will be detected by the study.

e-mail: mchugh8688@gmail.com

S8-2

Statistička obradba usporedbe mjernih postupaka

Mladen Petrovečki

Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku, Klinička bolnica
Dubrava, Zagreb, Hrvatska i
Katedra za medicinsku informatiku, Medicinski fakultet
Sveučilišta u Rijeci, Rijeka, Hrvatska

Mjerne postupke kojima određujemo brojnost, kakvoću, količinu, sadržaj ili koncentraciju istog analita ili tvari u kliničkom laboratoriju, ili općenito istog pokazatelja (varijable) u znanstvenom istraživanju, moguće je statistički usporediti posebnim postupcima čija je osobitost upravo to što uspoređuju isti pokazatelj u dva (ili više) mjerenja iste skupine ispitanika ili mjerenja dobivenih uporabom različitih mjernih sustava (uređaja, instrumenata, testova, upitnika). Umjesto uobičajenih koeficijenata korelacije (Pearsonov, Spearmanov, Cramerov) kao mjera povezanosti rabe se Linov koeficijent konkordancije (W), interklasni koeficijent korelacije (ICC, od engl. *interclass correlation coefficient*), rjeđe koeficijent ponovljivosti (BSI, od *British Standards Institute repeatability coefficient*), te Cohenov kappa (k) kao tipična statistička mjera podudarnosti ili sukladnosti. Mjerni postupci čiji su rezultati iskazani pravim brojčanim vrijednostima (brojčane mjerne ljestvice) mogu se i grafički usporediti Bland-Altmanovim dijagramom te grafikonom Krouwera i Montija (engl. tzv. *mountain plot*), te računski regresijskim raščlambama prema Passing-Babloku i Demingu.

e-adresa: mladenp@kbd.hr

S8-2

Method comparison and evaluation statistics

Mladen Petrovečki

Department of Laboratory Medicine, Dubrava University
Hospital, Zagreb, Croatia
Department of Medical Informatics, Rijeka University School of
Medicine, Rijeka, Croatia

Procedures to determine the quantity, quality, composition, or concentration of the same ingredient or substances in a clinical laboratory, or generally the same variable in scientific research, might be compared statistically using special procedures that relate the same indicator of two (or more) measurements of the same group of patients, or measurements obtained using different measurement systems (devices, instruments, tests, or questionnaires). Instead of usual correlation coefficients (Pearson, Spearman, Cramer) as measures of association, Lin coefficient of concordance (W), interclass correlation coefficient (ICC, interclass correlation coefficient), coefficient of repeatability (BSI, British Standards Institute of repeatability coefficient), and Cohen's kappa (k) are used as a typical statistical measures of agreement. Measuring procedures with results expressed using numerical values (numerical measurement scale) can be compared graphically by Bland-Altman's diagram and Krouwer-Monti's chart (mountain plot), or compared numerically by Passing-Bablok's and Deming's regression analyzes.

e-mail: mladenp@kbd.hr

S8-3

Najčešće pogreške u statističkoj obradi podataka i kako ih izbjeći

Lidija Bilić-Zulle

Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku, Klinički bolnički centar Rijeka, Rijeka, Hrvatska
Katedra za medicinsku informatiku Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Rijeci, Rijeka, Hrvatska

Znanstveni rad, objavljen u znanstvenom časopisu službeni je oblik komunikacije u znanstvenoj i akademskoj zajednici. Kao takav podložan je stalnoj prosudbi i kritičkom čitanju pa su pogreške koje rad moguće sadrži trajne, a mogu ostati i neprepoznate. U biomedicini gotovo da i nema znanstvenog rada u kojem se obrađuju i uspoređuju podatci o biološkim sustavima, a da ih nije potrebno statistički obraditi. Statističkom obradom sažimaju se i prikazuju rezultati, te se međusobno uspoređuju i stavljaju u odnose. Tumačenjem rezultata izvode se zaključci na temelju kojih se potvrđuju ili odbacuju postavljene ciljeve rada, tj. hipoteze. Iz toga je razvidno da pogreške u statističkoj obradi podataka mogu posvema obezvrijediti znanstveni rad, ukazati na neprimjerene zaključke i izravno voditi u zablude, a ne povećavati znanje. U biomedicinskom znanstvenom području takve zablude mogu biti opasne po ljudski život.

Pogreške koje se najčešće nalaze u člancima u svezi s obradom podataka mogu se svrstati u nekoliko skupina: pogreške u definiranju veličine uzorka i mjernih varijabli, pogreške u unosu i razvrstavanju podataka, pogreške u prikazu podataka (mjere središnjice i rasapa), pogreške u odabiru statističkih testova te pogreške u tumačenju i prikazu rezultata statističkih testova.

Uzorak koji se istražuje treba biti reprezentativan definiranoj populaciji. Veličina uzorka utvrđuje se izračunom, a ovisi o dizajnu i snazi studije te veličini značajne razlike. Unos podataka u tablice za obradu potrebno je s posebnom pozornošću kontrolirati jer jednom pogrešno uneseni podatci teško se otkriju, a mogu potpuno izmijeniti konačne rezultate. Prilikom sažimanja podataka i njihovog prikaza potrebno je, ovisno o vrsti i raspodjeli podataka, odabrati primjerene mjere središnjice i rasapa. Pojedinaim mjerama središnjice odgovaraju točno određene mjere rasapa. Pogrešno je rabiti primjerice interval pouz-

S8-3

The most common errors in biostatistics and ways to avoid them

Lidija Bilić-Zulle

Clinical Department of Laboratory Diagnostics, Clinical Hospital Centre Rijeka, Rijeka, Croatia
Department of Medical Informatics, Rijeka University School of Medicine, Rijeka, Croatia

Scientific paper is a communication tool in scientific and academic community. Once published it becomes subject of continued judgment of scientific community and possible errors in paper become everlasting. Sometimes errors stay even unrecognized for long time. In biomedicine researches often investigate data on biological systems and it is mandatory to process data by statistical data analysis. Statistics procedures summarized and present data and compare them i.e. reveal relationship among them. Interpretation of results of statistical analysis allows conclusions that will reject or accept previously established hypothesis. That is why errors in statistical analysis can completely devaluate whole research, cause false conclusions and thus lead to misconceptions instead to knowledge. In biomedicine such misconceptions can be threat to human health and life.

The most frequent errors that can be found in scientific papers can be classified as: errors in sampling, data entering and sorting, data presentation (measures of central tendency and dispersion), selecting statistical tests and interpreting and presenting results of statistical testing. Investigated sample needs to be representative to population. Sample size depends on research type, power of the study and should be calculated. Data entry is a crucial step in research. Errors made once cannot be easily discovered and can significantly influence final results. Data should be presented by proper measure of central tendency and dispersion, depending on data type and distribution. Each measure of central tendency has corresponding measurement of dispersion and it is erroneous to use others. It is not correct to use confidence interval or standard error as measure of dispersion. Selection of statistical test is an important step and it is mandatory to clearly identify statistical hypothesis e.g. if there is difference is investigate or for example, correlation. It is completely

danosti i standardnu pogrešku kao mjeru raspršenja niza numeričkih podataka jer ga oni ne opisuju i tako prikazani daju pogrešnu informaciju o raspršenju. Prilikom izbora statističkih testova važno je dobro definirati statističke hipoteze i razumjeti ispituje li se razlika ili povezanost. Posvema je pogrešno usporediti sve sa svime pa tražiti ima li gdje kakve statistički značajne razlike. Odabir statističkog testa koji će potvrditi ili odbaciti postavljenu hipotezu, ovisi i o dizajnu istraživanja, vrsti, broju i veličini uzoraka te raspodjeli izmjerenih podataka. Većina statističkih testova ima određene uvjete koje treba poštivati, kako bi rezultati obradbe upućivali na primjerene zaključke. Odabere li se primjeren statistički test potrebno je primjereno i tumačiti rezultate obradbe. Pri zaključivanju o statistički značajnim razlikama ili povezanostima treba voditi računa da se radi o zaključivanju uz određenu pogrešku čiju veličinu treba unaprijed odrediti. Prilikom tumačenja rezultata potrebno je voditi računa i razumjeti razliku između statističke i kliničke značajnosti.

Nažalost, pogreške u statističkoj obradi podataka nisu rijeke i u objavljenim znanstvenim člancima, a pravi su izazov za urednike i recenzente u postupku obrade i procjene članka prije objavljivanja. Istraživači trebaju poznavati statističku metodologiju i u znanstveni tim uključiti suradnike statističare od samog početka istraživanja, a ne za obradu podataka u trenutku kad je istraživanje završeno.

e-adresa: lidija.bilic.zulle@medri.uniri.hr

wrong to compare everything and then find out if there was statistically significant difference between some variables. Selection of statistical test that will support or decline hypothesis depends on research design, number of samples and their size and data distribution. For the most of statistical tests specific criteria of data have to be fulfilled in order to obtain results that will point out appropriate conclusions. It is important to remember that conclusions based on statistical analysis contain certain level of error that has to be established previous data analysis. Conclusions have to be commented in statistical and clinical manner and not all statistical differences are clinically important.

Unfortunately, errors in statistics are not rare even in published papers and they are real challenge for editors and peer-reviewers in scientific journals. Scientists need to be familiar with statistical procedures and have to include statistician in research teams from the very beginning of the research, not at the end when already made errors are difficult to resolve.

e-mail: lidija.bilic.zulle@medri.uniri.hr

S9 - Upravljanje kvalitetom laboratorijskog rada

S9-1

Harmonizacija referentnih intervala

Annette Thomas

Consultant Clinical Biochemist, Director of Weqas, Cardiff, UK

Velška vlada je 2010. godine financirala projekt harmonizacije laboratorijskih informacijskih sustava (LIS) u cijeloj zemlji vrijedan nekoliko milijuna funti. Zdravstveni sustav Walesa sačinjavalo je 18 bolničkih

S9 - Quality in laboratory medicine

S9-1

Harmonisation of reference ranges

Annette Thomas

Consultant Clinical Biochemist, Director of Weqas, Cardiff, UK

In 2010, the Welsh Government provided funding for a multimillion pound initiative to provide a single Laboratory Information System (LIMS) across the country. NHS Wales at that time had 18 Hospi-

laboratorija koji su koristili 8 različitih informatičkih sustava, a ukupno su izrađivali više od 21 milijuna dijagnostičkih testova godišnje uz stalan porast broja testova. Novi LIS dio je inicijative za modernizacijom laboratorijskih usluga u Walesu kako bi se kroz umrežavanje nacionalnog zdravstvenog sustava unaprijedila kvaliteta i efikasnost te standardizirala svakodnevna praksa i upravljanje. Integracija u jedan LIS koji sadrži pacijentove medicinske zapise omogućila bi dostupnost podataka i usporedbu rezultata bez obzira na mjesto obrade pacijenta i mjesto izrade analiza. Prije same implementacije 2012. godine, bilo je potrebno zajednički definirati standardiziranu konfiguraciju LIS-a, što je predstavljalo značajan izazov za sve laboratorije. Za područje biokemije bilo je potrebno postići dogovor za više od 300 analita. U svrhu učinkovitijeg dogovora uspostavljena je Skupina za standardizaciju sastavljena od po jednog predstavnika iz svake zdravstvene ustanove. Cilj je bio usuglasiti: ime testa, kratice, mjerne jedinice, referentne intervale, kritične vrijednosti, algoritme analiza te minimalno vrijeme za ponovljena mjerenja. Postupak rada preuzet je od organizacije za harmonizaciju laboratorija u Ujedinjenom Kraljevstvu, *Pathology Harmony UK*. Referentni intervale dobiveni su pregledom intervala u trenutnoj upotrebi, a konačan odabir referentnog intervala temeljen je na trenutno dostupnim podatcima iz literature. U slučaju kada nije bilo moguće postići konsenzus preporučeno je preuzeti intervale s obzirom na analitički sustav ili mjernu metodu, a prema preporukama iz deklaracija proizvođača ili drugih literaturnih izvora. Referentni intervale i mjerne jedinice za natrij, kalij, ureju, kloride, bikarbonate, fosfate, magnezij, albumin, ukupne proteine, bilirubin, urate, osmolalnost, karbamazepin, fenobarbiton, fenitoin, teofilin i litij preuzeti su od *Pathology Harmony UK*. IFCC metoda dogovorena je za određivanje alkalne fosfataze. Za kreatin kinazu dogovoren je interval samo za populaciju bijele rase. Za ostale enzime dogovoreni su intervale specifični za analitički sustav. Jednadžbe za korigirani kalcij uspostavljene su pojedinačno za svaki analitički sustav u svrhu postizanja normalizirane srednje koncentracije kalcija 2,4 mmol/L. Referentni intervale ovisno u analitičkom sustavu definirani su za: ACE, kalcij, korigirani bilirubin, laktat i većinu imunokemijskih metoda. Odluke su donošene temeljem preporuka organizatora vanjske kontrole kvalitete, profesionalnih udruga, savjeta liječnika, kataloga Kraljev-

tal Laboratories using 8 different IT systems and undertaking more than 21 million diagnostic tests each year with demand continuing to rise. The new LIMS was part of the drive to modernize pathology services across Wales, to provide a networked national system that would improve quality and efficiency, standardize practice and improve governance. Integration of the single LIMS with patients' medical records would allow test results to be shared and viewed, regardless of where the patient received care, or where the test was undertaken. This provided a huge challenge to the Pathology Laboratories to agree on a standardised configuration of the LIMS prior to its implementation in 2012. For Biochemistry this agreement was required for over 300 tests. To achieve this a Standardization group was established with representation from each of the Health Boards with the aim to agree on: test/profile names, codes, units, reference and alert ranges, testing strategies, and minimum repeat requesting intervals. The process used by Pathology Harmony UK was adopted. The agreed ranges were derived by surveys of ranges in current use and basing a judgement of the most appropriate as a consensus weighted by evidence based literature review. Where consensus was not appropriate, analytical platform or method specific reference ranges were developed. These were derived from manufacturer's kit inserts, or, where these were unreliable, from literature based evidence. Pathology Harmony UK ranges and units were used for serum sodium, potassium, urea, chloride, bicarbonate, phosphate, magnesium, albumin, total protein, bilirubin, urate, osmolality, carbamazepine, phenobarbitone, phenytoin, theophylline, and lithium. For alkaline phosphatase, it was agreed that all laboratories would use the IFCC method, for creatine kinase a common range for white Caucasians only was agreed, platform specific ranges were developed for the remaining enzymes. Adjusted calcium equations were derived for each platform to provide normalised mean calcium of 2.4 mmol/L. Platform specific reference ranges were developed for serum ACE, calcium, bilirubin conjugate, lactate and the majority of the immunoassay methods. Supporting evidence were provided by External Quality Assessment organisations, Professional bodies, Advice from Clinicians, National Laboratory of Medicine Catalogue Editorial Principles, All Wales Clinical Bioche-

ske udruge laboratorijske medicine (engl. *The Royall College of Pathologists, National Laboratory of Medicine Catalogue*), Grupe za nadzor kliničkih laboratorija Walesa (engl. *All Wales Clinical Biochemistry Audit Group*), smjernica nacionalnog instituta za zdravstvo i njegu (engl. *National Institute for Health and Care Excellence, NICE*), Nacionalnih smjernica (engl. *National Service Frameworks*) i recenziranih časopisa.

e-adresa: annette@weqas.com

S9-2

Analitička kvaliteta temeljena na procjeni rizika

Adriana Unić

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

Rezultati laboratorijskih mjerenja imaju izravan utjecaj na donošenje kliničkih odluka i time na ishod pacijenta. Dužnost svakog laboratorija je da osigura da izdani nalaz bude točan i pouzdan.

U području analitičke kvalitete na raspolaganju imamo nekoliko strategija osiguranja kvalitete. U prvom redu to je provođenje unutarnje kontrole kvalitete.

Pojam provođenja unutarnje kontrole u kliničkom laboratoriju označava analiziranje kontrolnog uzorka. Kontrolni uzorci su dizajnirani tako da budu što sličniji uzorku bolesnika, a korištenje statističkih metoda nam omogućava da utvrdimo značajnu promjenu u izvedbi metode ili u mjernom sustavu i time spriječimo izdavanje pogrešnih rezultata.

Uobičajena praksa provođenja unutarnje kontrole kvalitete još uvijek se temelji uglavnom na zahtjevima regulatornih tijela i najčešće podrazumijeva provođenje unutarnje kontrole kvalitete minimalno jednom dnevno u dvije koncentracijske razine.

Međutim, sasvim je jasno da strategija provođenja unutarnje kontrole kvalitete ne može biti univerzalna za sve metode u laboratoriju.

Posljednjih nekoliko godina, laboratorijske smjernice slijede trendove u drugim industrijskim granama i stoga preporučuju razvijanje individualnog plana

mistry Audit Group, NICE guidance, National Service Frameworks and peer-reviewed journals.

e-mail: annette@weqas.com

S9-2

Analytical quality based on risk assessment

Adriana Unić

Clinical department of laboratory diagnostics, University hospital Dubrava, Zagreb, Croatia

Laboratory test results have major impact on clinical decision-making and thus influence the patient outcome. Therefore it is the responsibility of each laboratory to ensure accurate and reliable test results.

In the area of analytical quality there are several quality strategies available in order to reduce risk in method failure. First of all it is an internal quality control.

Internal quality control in the clinical laboratory is the process used to monitor and evaluate results of control samples. Quality control material should approximate the same matrix as patient specimens and should be treated in the exact same manner. Furthermore, the use of statistical methods allows us to establish a significant change in the method performance and thus prevent the false results.

Internal quality control strategy is still largely based on the requirements of the regulatory authorities and in most cases implies a quality control run at least once a day at two concentration levels. However, it is clear that the internal quality control strategy cannot be universal for all methods in the laboratory.

Therefore, new laboratory guidelines recommend implementation of individual internal quality control strategy based on risk assessment. Implementa-

provođenja unutarnje kontrole kvalitete baziranog na analizi rizika.

Individualni plan provođenja unutarnje kontrole kvalitete trebao bi identificirati kontrolne uzorke, specificirati frekvenciju njihova provođenja, opisati popravne radnje i specificirati moguće pogreške.

Koraci u izradi plana provođenja unutarnje kontrole kvalitete su: prikupljanje informacija o postupku testiranja; procjena rizika u procesu; razvijanje plana kontrole kvalitete za ublažavanje rizika; implementacija, praćenje i ažuriranje plana.

Proučavanje specifikacija proizvođača dobivenih postupkom analitičke validacije prvi je korak prilikom izrade individualnog plana provođenja unutarnje kontrole kvalitete. Laboratorij je dužan postupkom verifikacije provjeriti navode proizvođača i na taj način osigurati da je postupak ispitivanja prikladan za namjeravanu upotrebu. Postavljanje kriterija prihvatljivosti je najvažnija strategija kojom se smanjuje mogućnost pogreške. Kada utvrdimo da je postupak ispitivanja prikladan, unutarnja kontrola kvalitete je sljedeći korak. Odluka o prihvaćanju ili odbijanju rezultata unutarnje kontrole kvalitete postaje ključan proces osiguranja kvalitete izdanih rezultata. Dinamika provođenja unutarnje kontrole kvalitete, broj potrebnih kontrolnih uzoraka i kriteriji prihvatljivosti rezultata unutarnje kontrole kvalitete mogu biti definirani korištenjem Six Sigma sustava. Sigma vrijednost je prihvaćena kao univerzalna mjera kvalitete i može se koristiti za ocjenu analitičke izvedbe laboratorijskog procesa. Broj pogrešnih rezultata na milijun mjerenja je mjera analitičke kvalitete laboratorijskih procesa. Pristup, temeljen na Sigma vrijednosti metode, preporuča pažljivo dizajniranje protokola unutarnje kontrole kvalitete kako bi sigurno detektirali nastalu pogrešku i smanjili broj izdanih nepouzdanih rezultata. Nakon definiranja strategije provođenja unutarnje kontrole kvalitete, praćenja i analize izvedbe, identifikacije pogrešnih rezultata, definiranja mogućnosti poboljšanja i njihove implementacije, laboratorij mora procijeniti stopu pogrešaka kako bi kvantificirao njihovu učestalost, a zatim koristiti Six Sigma sustav kvalitete kako bi se procijenio rizik izdavanja pogrešnih nalaza.

Samo pažljivo dizajniranim sustavom provedbe unutarnje kontrole kvalitete možemo osigurati vjerodostojnost izdanih laboratorijskih rezultata.

e-adresa: adrianaunic@gmail.com

tion plan should identify the control samples, specify their frequency, corrective actions and possible errors. Implementation of individual quality control strategy requires: information about the testing procedure; risk assessment analysis; developing of quality control plan to mitigate risk; implementation, monitoring and updating of the plan.

Study of specifications obtained by the method analytical validation is the first step in implementation of individual internal quality control strategy. The laboratory has to verify the verification procedure obtained by the manufacturer and thus ensure that the test procedure is suitable for its intended use. Setting the acceptance criteria is the most important strategy in order to reduce possible errors. When we determine that the test procedure is suitable, implementation of internal quality control strategy is the next step. The decision on acceptance or rejection of the results of internal quality control measurement is a key process in order to ensure the quality of test results. Internal quality control measurement frequency, the number of required control samples and eligibility of results can be defined using the Six Sigma quality system. Sigma value is accepted as a universal measure of quality and can be used to assess the analytical performance of the laboratory process. The number of false results per million is a measure of the analytical quality of laboratory process. Quality strategy, based on the Sigma value, recommend the carefully design of internal quality control strategy in order to detect cause and reduce the number of unreliable test results. After defining the strategy, monitoring and analysis of performance, identification of false results and possible improvements, laboratory have to evaluate the rate of false results in order to quantify their frequency then use the Sigma quality system in order to assess the risk of false patient results.

Only carefully designed internal quality control strategy can ensure the accurate and reliable test results.

e-mail: adrianaunic@gmail.com

S9-3

Mjerna nesigurnost

Ivana Čelap

Klinički zavod za kemiju, Klinički bolnički centar Sestre milosrdnice, Zagreb, Hrvatska

Potreba za izračunom mjerne nesigurnosti proizlazi iz potrebe za usporedivošću rezultata laboratorijskih pretraga. Prema HRN EN ISO 15189 (točka 3.17.), mjerna nesigurnost je parametar povezan s rezultatom mjerenja, koji obilježava raspršenost vrijednosti koje bi se mogle opravdano pripisati mjerenoj veličini. Odnosno, mjerna nesigurnost opisuje raspon vrijednosti unutar koje se nalazi rezultat mjerenja, pri čemu se on s istom vjerojatnošću nalazi unutar cijelog raspona.

Mjerna nesigurnost nije pokazatelj pogreške mjernog sustava već promjenjivosti mjernih uvjeta i stoga je svojstvo rezultata mjerenja.

Brojna međunarodna tijela za standarde su izdala smjernice koje opisuju izvore varijabilnosti kao i pristupe izračunu mjerne nesigurnosti za laboratorijske pretrage, ali i dalje traju prijepori koje je sve izvore varijabilnosti potrebno uključiti u bilancu za izračun, kao i koji je način iskazivanja podatka o mjerenoj nesigurnosti za pojedinu laboratorijsku pretragu (ili koncentracijsko područje) najprihvatljiviji.

Izvor varijabilnosti u laboratorijskom procesu je svaka pojava koja doprinosi nesigurnosti rezultata mjerenja, a možemo ih pronaći u svim segmentima – prijeanalitičkom, analitičkom i poslijeanalitičkom. Zbog nemogućnosti kvantifikacije prijeanalitičkih i poslijeanalitičkih izvora varijabilnosti, mjerna nesigurnost se prvenstveno odnosi na analitičku fazu. Prije uključivanja u izračun mjerne nesigurnosti, za svaki izvor varijabilnosti potrebno je njegovu veličinu izraziti u obliku standardne mjerne nesigurnosti, koja će udruživanjem s veličinama ostalih izvora postati sastavnica sastavljene standardne mjerne nesigurnosti. Potom sastavljenu standardnu mjernu nesigurnost možemo uvećati za faktor pokrivanja (k), najčešće $k=2$, da bismo dobili povećanu mjernu nesigurnost. Pomoću povećane mjerne nesigurnosti uz $k=2$ iskazuje se mjerna nesigurnost za 95% rezultata mjerenja.

Podatak o mjerenoj nesigurnosti ima praktičnu primjenu u ocjeni značajnosti razlike između dva mje-

S9-3

Uncertainty of measurement

Ivana Čelap

University Department of Chemistry, Sestre Milosrdnice University Hospital, Zagreb, Croatia

The need for comparability of the laboratory test results created the need for the calculation of the uncertainty of measurement. According EN ISO 15189 (3.17.), "uncertainty of measurement is a parameter associated with the result of a measurement, that characterises the dispersion of the values that could reasonably be attributed to the measurand." Respectively, uncertainty of measurement gives us information on the range of values where the result can be found with the same probability. The uncertainty of measurement is not an indicator of the measuring system error but the variability of measuring conditions over time. Therefore, it is a property of the result of measurement.

Many international institutes for standards have published the guidelines which in details describe sources of measurement uncertainty as well as different approaches for calculation of the uncertainty of measurement. However, there is controversy which sources of variability have to be included in uncertainty budget and which ones could be omitted. Further, expressing of the uncertainty depends on the laboratory test and/or concentration of the measurand.

In laboratory process, source of uncertainty is every component of the process which contributes to uncertainty and could be found in preanalytical, analytical and postanalytical phase. Since the sources of uncertainty in preanalytical and postanalytical phase could not be quantified, calculation of the uncertainty of measurement can be made only for analytical phase.

Every source of uncertainty has to be expressed as standard uncertainty and contributes to combined standard uncertainty with the other standard uncertainties in the specific measurement. Combined standard uncertainty of measurement multiplied with the coverage factor (k), $k=2$, is termed expanded uncertainty and covers 95% results of measurement.

renja, kao i u ocjeni postavljenih analitičkih ciljeva kvalitete.

Iskazivanje podatka o mjernoj nesigurnosti laboratorijske pretrage na nalazu još nije dio prakse, ali je, na zahtjev, dostupan svim korisnicima usluga akreditiranih laboratorija. O mjernoj nesigurnosti posebno valja voditi računa pri tumačenju rezultata mjerenja koja se nalaze na graničnim područjima referentnih intervala, oko preporučenih vrijednosti i/ili granica kliničke odluke.

U predavanju će biti prikazani izvori nesigurnosti, analiza i pristupi izradi bilance za izračun mjerne nesigurnosti te načini izračuna za pretrage iz različitih medicinskobiokemijskih područja, kao i praktična primjena dobivenih podataka.

e-adresa: ivana.celap@gmail.com

Uncertainty of measurement information could be used for i.e. estimation of differences between two measurements and/or estimation of quality specifications set up.

Uncertainty of measurement information still is not a part of laboratory report but must be available to clients of the accredited laboratories.

When interpreting laboratory test results near diagnostic cut-off or near limits of reference interval, one should bear in mind information on uncertainty of measurement.

Sources of uncertainty, approaches in establishing the uncertainty budget, calculation of uncertainty of measurement and the use of the obtained data for different laboratory tests will be presented.

e-mail: ivana.celap@gmail.com

A – Laboratorijska dijagnostika i praćenje zloćudnih bolesti

A01

Procjena koncentracije tumorskog biljega ProGRP u pacijenata s karcinomom pluća malih stanicaJozo Ćorić¹, Radivoj Jadrić², Elma Kučukalić¹, Berina Hasanefendić¹, Mirsad Panjeta¹¹Department of Clinical Chemistry, Clinical Center of Sarajevo University, Sarajevo, Bosnia and Herzegovina²Department of Biochemistry, School of Medicine, Sarajevo, Bosnia and Herzegovina

Uvod: Gastrin oslobadajući peptid (GRP) je specifičan biljeg karcinoma pluća malih stanica (SCLC). Određivanje ProGRP služi kao pomoć pri diferencijalnoj dijagnozi karcinoma pluća u kombinaciji s drugim tumorskim biljezima poput serumske koncentracije neuron-specifične enolaze (NSE).

Materijali i metode: ProGRP i NSE određivani su metodom elektrokemiluminiscencije (ECLIA) na analizatoru Roche-Cobas e601 u serumu 25 zdravih osoba i 32 bolesnika s histološki dokazanim SCLC. Prosječna dob pacijenta sa SCLC je 62 godina (raspon: 42-69), a uključuje 19 žena i 13 muškaraca. Analitička procjena ProGRP-a uključivala je nepreciznost u seriji i između serija. Za unutarnju kontrolu kvalitete korišteni su PreciControl ProGRP 1 i 2.

Rezultati: Median za ProGRP bio je značajno veći u bolesnika sa SCLC u odnosu na kontrolnu skupinu (30,3 vs. 141,2 pg/mL, $P < 0,001$). Razine seruskog ProGRP bile su povišene u 78% (25/32) bolesnika. Slični rezultati dobiveni su određivanjem NSE. Nepreciznost u seriji s komercijalnim kontrolama za PreciControl ProGRP 1 je 4,6%, a za PreciControl ProGRP 2 je 3,6%; nepreciznost iz dana u dan za PreciControl ProGRP 1 je 7,5%, a za PreciControl ProGRP 2 je 8,2%.

Zaključak: Serumska koncentracija ProGRP je specifično povišena kod pacijenata sa SCLC. Prikazani rezultati analitičke procjene metode za određivanje ProGRP-a na Roche-Cobas e601 analizatoru ukazuju na prihvatljivu točnost i preciznost.

e-adresa: coricjozo@hotmail.com

A – Laboratory diagnostics and monitoring of malignant diseases

A01

Assessment of tumor marker ProGRP concentration in patients with small lung cancerJozo Ćorić¹, Radivoj Jadrić², Elma Kučukalić¹, Berina Hasanefendić¹, Mirsad Panjeta¹¹Department of Clinical Chemistry, Clinical Center of Sarajevo University, Sarajevo, Bosnia and Herzegovina²Department of Biochemistry, School of Medicine, Sarajevo, Bosnia and Herzegovina

Introduction: Gastrin-releasing peptide (GRP) is a specific and secreted product of small cell lung carcinoma (SCLC) cells. The assay ProGRP is used to aid in the differential diagnosis in lung cancer in conjunction with other tumor markers like determination serum concentrations neuron-specific enolase (NSE).

Materials and Methods: ProGRP and NSE were measured by electrochemiluminescence immunoassay (ECLIA) on Roche-Cobas e601 analyzer in sera obtained from 25 healthy subjects and 32 patients with histological proven SCLC. Median age of SCLC patients was 62 year old (range: 42-69) and included 19 females and 13 males. Analytical assessment of ProGRP determination comprised within-run and between-run imprecision. For quality control we use PreciControl ProGRP 1 and 2.

Results: Median values for ProGRP were significantly higher in patients with SCLC to the control group (30.3 vs. 141.2 pg/mL, $P < 0,001$). Serum ProGRP levels were elevated in 78% (25/32) patients. We found similar results with NSE. Within-run imprecision on the commercially controls for PreciControl ProGRP 1 is 4.6% and 3.6% for PreciControl ProGRP 2; between-day imprecision for PreciControl ProGRP 1 is 7.5% and 8.2% for PreciControl ProGRP 2 respectively.

Conclusion: Serum ProGRP level were specifically elevated in SCLC patients. The presented results of the analytical evaluation methods for the determination of ProGRP on the Roche-Cobas e601 analyzer showed an acceptable accuracy and precision.

e-mail: coricjozo@hotmail.com

A02

Povezanost vrijednosti prokalcitonina i C-reaktivnog proteina prvi postoperativni dan s razdobljem oporavka pacijenta nakon operacija zloćudnih bolesti crijeva

Sanja Dobrijević¹, Ljiljana Mayer¹, Danko Velimir Vrdoljak², Mihaela Gaće¹, Zvezdana Špacir Prskalo¹, Petra Pozaić¹, Iva Kirac²

¹Klinička jedinica za medicinsku biokemiju u onkologiji, Klinika za tumore, Klinički bolnički centar Sestre milosrdnice, Zagreb, Hrvatska

²Kirurška onkologija, Klinika za tumore, Klinički bolnički centar Sestre milosrdnice, Zagreb, Hrvatska

Uvod: Prokalcitonin (PCT) i C-reaktivni protein (CRP) bilježi su upale s različitom dinamikom sinteze i razgradnje u organizmu. Zbog učestalih zahtjeva za istodobno određivanje PCT-a i CRP-a u serumu cilj je bio utvrditi u koliko slučajeva CRP ne prati dinamiku PCT te da li vrijednost PCT-a prvi dan nakon operacije zloćudne bolesti crijeva korelira s duljinom oporavka pacijenta.

Ispitanici i metode: U periodu od 1.8.2013. do 31.7.2014. zbog zloćudne bolesti crijeva operiran je 181 pacijent. Retrospektivnom analizom prikupljeni su podaci o duljini postoperativnog boravka u bolnici, PCT-u i CRP-u u serumu od 1. do 6. postoperativnog dana. Isključeni su pacijenti kojima nisu određeni upalni parametri 1. postoperativni dan. Skupina je činila 67 ispitanika, 61% muškaraca, 64 godine (30-80). PCT je određen na Elecsys 2010 (Roche Diagnostics GmbH, Njemačka), a CRP na Architect c4000 (Abbott Laboratories, SAD). Za statističku obradu podatak korišten je MedCalc Version 10.2.1.0. (Mariakerke, Belgija). $P < 0,05$ smatran je statistički značajnim.

Rezultati: Duljina postoperativnog boravka u bolnici bila je 10 (8-13) dana. Ustanovljena je statistički značajna povezanost između duljine postoperativnog boravka u bolnici i vrijednosti PCT-a ($r=0,31$; $P=0,011$) te CRP-a ($r=0,29$; $P=0,019$). Kod 51% ispitanika 2. postoperativni dan prisutan je pad koncentracije PCT-a i porast CRP-a. Ne postoji statistički značajna razlika ($P=0,096$) u vrijednostima PCT-a u skupini ispitanika koji su postoperativno u bolnici proveli ≤ 10 dana od onih koji su proveli više od 10 dana. Vrijednost PCT-a viša od 1,16 ng/ml određena 1. postoperativni dan uz osjetljivost 45,2% (95%CI 27,3 - 64,0) i specifičnost

A02

Correlation between procalcitonin and C-reactive protein values on first postoperative day and patient's recovery period after malignant bowel disease surgery

Sanja Dobrijević¹, Ljiljana Mayer¹, Danko Velimir Vrdoljak², Mihaela Gaće¹, Zvezdana Špacir Prskalo¹, Petra Pozaić¹, Iva Kirac²

¹Medical Biochemistry Laboratory, Institute for Tumors, University Hospital Centre Sestre milosrdnice, Zagreb, Croatia

²Department of Surgical Oncology, Institute for Tumors, University Hospital Centre Sestre milosrdnice, Zagreb, Croatia

Introduction: Procalcitonin (PCT) and C-reactive protein (CRP) are inflammatory markers with different synthesis and degradation dynamics. Our aim was to determine number of cases where CRP does not follow PCT dynamics, and investigate if PCT values on first postoperative day after malignant bowel disease surgery correlates with patient's recovery period.

Subjects and Methods: In 1-year period 181 patients were operated due to malignant bowel disease. Data about length of postoperative hospital stay, PCT and CRP concentration in serum from 1st to 6th postoperative days were collected retrospectively. Patients whose inflammatory parameters were not measured on first postoperative day were excluded. Group included 67 patients (61% men) with median age 64 (30-80). PCT was determined on Elecsys 2010 (Roche Diagnostics GmbH, Germany), and CRP on Architect c4000 (Abbott Laboratories, USA). MedCalc Version 10.2.1.0. (Mariakerke, Belgium) was used for statistical analysis. $P < 0.05$ was considered statistically significant.

Results: Significant correlation between recovery period and PCT values ($r=0.31$; $P=0.011$) and CRP values on first postoperative day ($r=0.29$; $P=0.019$) was observed. On the second postoperative day, decrease in PCT concentration and increase of CRP value were noted in 51% subjects. There was no statistically significant difference ($P=0.096$) in PCT values in the group of patients who spent ≤ 10 days in hospital after surgery of those who spent > 10 days. PCT values higher than 1.16 ng/mL determined on first postoperative day indicate that postoperative hospital stay will be longer than 10 days with sensitivity

77,8 % (95%CI 60,8 - 89,9) indicira da će postoperativni boravak u bolnici biti dulji od 10 dana.

Zaključak: Dužina boravka pacijenata u bolnici nakon operacija zloćudnih bolesti crijeva slabo korelira s vrijednostima upalnih parametara 1. postoperativni dan. Kod više od polovice pacijenata pad PCT-a može se uočiti dan prije pada CRP-a.

e-adresa: saana.smail@gmail.com

of 45.2% (95%CI 27.3-64.0) and specificity of 77.8% (95%CI 60.8-89.9).

Conclusion: Correlation between recovery period of patients in the hospital after malignant bowel disease surgery and inflammatory parameters on first postoperative day was statistically significant. In more than half of patients decrease of PCT values can be seen one day before decrease of CRP values.

e-mail: saana.smail@gmail.com

A03

Dijagnostički potencijal humanog epididimis proteina 4 (HE4) i ROMA indeksa u žena s rakom jajnika

Zvezdana Špacir Prskalo¹, Ljiljana Mayer¹, Mihaela Gaće¹, Sanja Dobrijević¹, Mario Puljiz², Ilija Alvir², Ivica Mamić², Damir Danolić²

¹Klinička jedinica za medicinsku biokemiju u onkologiji, Klinika za tumore, Klinički bolnički centar Sestre milosrdnice, Zagreb, Hrvatska

²Zavod za kiruršku onkologiju, Odjel za ginekološko-onkološku kirurgiju, Klinika za tumore, Klinički bolnički centar Sestre milosrdnice, Zagreb, Hrvatska

Uvod: Rak jajnika, koji se u Hrvatskoj nalazi na petom mjestu novodijagnosticiranih tumora u žena, bilježi kontinuirani porast incidencije, i na samom je vrhu uzroka smrti ginekoloških maligniteta; od 440 novodijagnosticiranih godišnje umre 301 žena, najčešće radi prekasnog otkrivanja. Standardno korišten CA125 manjkave je osjetljivosti i specifičnosti. U zadnjih nekoliko godina nižu se argumenti da je HE4 (humani epididimis protein 4), bilo kao samostalan biljeg, bilo u kombinaciji s CA 125 kao dio ROMA izračuna daleko pouzdaniji biljeg (ne raste u endometriozu, cistama, miomima i ne-ginekološkim malignitetima). Ovim je istraživanjem, po prvi puta u Hrvatskoj, ispitana korisnost HE4 i ROMA izračuna klasifikaciji tumora jajnika od ostalih ginekoloških maligniteta.

Ispitanici i metode: U istraživanje je uključeno sveukupno 63 pacijentica Klinike za tumore, KBCSM s predoperativnim nalazom dokazane tumorske mase u zdjelici nepoznate etiologije. U 20/63 žena je naknadnom patohistološkom dijagnostikom potvrđen

A03

The diagnostic potential of human epididymis protein 4 (HE4) and ROMA index in women with ovarian cancer

Zvezdana Špacir Prskalo¹, Ljiljana Mayer¹, Mihaela Gaće¹, Sanja Dobrijević¹, Mario Puljiz², Ilija Alvir², Ivica Mamić², Damir Danolić²

¹Medical Biochemical Laboratory, Institute for Tumors, University Hospital Centre Sestre milosrdnice, Zagreb, Croatia

²Department of Surgical Oncology, Department of Gynecology Oncology Surgery, Institute for Tumors, University Hospital Centre Sestre milosrdnice, Zagreb, Croatia

Introduction: Ovarian cancer which in Croatia is fifth in newly diagnosed cancer in women; 440 newly diagnosed die 301 women. In recent years, the arguments are that the HE4, either by itself or in combination with CA 125 as part of the ROMA calculations far more reliable marker (no increases in endometriosis, cysts and non-gynecological malignancies). First time in Croatia examined the utility of HE4 and ROMA calculating the classification of ovarian tumors of other gynecological malignancies.

Subjects and Methods: The study included 63 patients of Institute for tumors with preoperative findings demonstrated tumor mass in the pelvis of unknown etiology. In 20/63 women subsequent histopathologic diagnosis was confirmed ovarian cancer. HE4 and CA125 measurement were the Elecsys 2010 (Roche). The subjects were classified according to menopausal status, to the ROMA calculation formula is used.

rak jajnika. HE4 i CA125 mjerni su na Elecsys 2010 (Roche). Ispitanice su klasificirane prema menopausalnom statusu, kako bi se za ROMA izračun koristila primjerena formula.

Rezultati: Izmjerena koncentracije HE4 u skupini žena s rakom jajnika 131,7 (76,6–639,9) mg/ml je bila statistički značajno viša od ostalih ginekoloških maligniteta 52,6 (48,1–62,2) mg/mL; $P < 0,001$. ROC analizom je ustanovljena 64,7% osjetljivost i 90,5% specifičnost uz cutt-of 95,62 mg/mL; AUC 80,3% za HE4 i 70,6% osjetljivost i 88,9% specifičnost uz cutt-of 34,1 mg/mL; AUC 82,2% za ROMA izračun u razlikovanju tumora jajnika od ostalih maligniteta.

Zaključak: Dobiveni rezultati usklađeni su s literaturnim dokazima o uporabljivosti HE4 i ROMA izračuna. Potvrđena je relevantnost i korisnost predoperativnog nalaza kliničaru-operateru da se radi upravo o raku jajnika. Neusporedivo manji broj lažno pozitivnih rezultata u usporedbi s CA125 čini HE4 gotovo idealnim organ specifičnim tumorskim biljegom. Kalkulacija HE4 s CA125 u okviru ROMA izračuna povećava osjetljivost uz tek neznatnu redukciju specifičnosti. Vjerojatno će uskoro ginekolozi, onkolozi, radioterapeuti u HE4 prepoznati potencijal za praćenje učinka terapije i progressa bolesti.

e-adresa: zspacir@net.hr

A04

Dijagnostička vrijednost tumorskog biljega HE4 u ginekološkoj onkologiji

Dragana Šegulja, Danica Matišić, Ivana Lapić, Dunja Rogić

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

Uvod: Karcinom jajnika je druga najčešća maligna bolest i peti uzrok smrti od karcinoma u žena. Petogodišnje preživljenje kod epitelnog karcinoma jajnika otkrivenog u FIGO stadiju I je 90%. Danas se <30% Ca jajnika dijagnosticira u FIGO stadiju I ili II. CA125, do nedavno jedini tumorski biljeg u laboratorijskoj dijagnostici Ca jajnika, nedovoljne je dijagnostičke specifičnosti i osjetljivosti. S ciljem poboljšanja dijagnostike Ca jajnika ispitivano je nekoliko različitih proteina. Obecavajuće rezultate dao je sekretorni glikoprotein HE4 (engl. *human epididymal protein*

Results: Measured concentrations of HE4 in a group of women with ovarian cancer 131.7 (76.6–639.9) mg/mL was significantly higher than other gynecological malignancies 52.6 (48.1–62.2) mg/mL; $P < 0.001$. ROC analysis revealed 64.7% sensitivity and 90.5% specificity with cutt-of 95.62 mg/mL; AUC of 80.3% for the HE4 and 70.6% sensitivity and 88.9% specificity with the cutt-of 34.1 mg/mL; AUC of 82.2% for the calculation of the ROMA in distinguishing ovarian cancer from other cancers.

Conclusion: The results confirm literature data of the usability of HE4 and ROMA calculation. Confirmed the relevance and usefulness of preoperative findings clinician operator to be doing just about ovarian cancer. Incomparably smaller number of false positive results in comparison with CA125 makes HE4 almost ideal organ specific tumor marker. Calculation HE4 with CA125 within ROMA calculation increases the sensitivity with only a slight reduction in specificity. Gynecologists and oncologists in HE4 recognize the potential for monitoring therapy and progress of the disease.

e-mail: zspacir@net.hr

A04

Diagnostic value of HE4 tumor marker in gynecological oncology

Dragana Šegulja, Danica Matišić, Ivana Lapić, Dunja Rogić

Department of Laboratory Diagnostics, University Hospital Centre Zagreb, Zagreb, Croatia

Introduction: Ovarian cancer is the second most common malignancy and the fifth cause of cancer death in women. Five-year survival in epithelial ovarian cancer detected in FIGO stage I is 90%. Today, <30% ovarian Ca are diagnosed in FIGO stage I or II. CA125, recently the only tumor marker in diagnostics of ovarian Ca, has insufficient diagnostic specificity and sensitivity. Several different proteins are investigated to improve diagnostics of ovarian Ca. Promising results have been obtained for secretory glycoprotein HE4. The aim of this study was to

4). Cilj ovog rada je ispitati dijagnostičku vrijednost biljega HE4 kod bolesnica upućenih na određivanje CA125 u KBC Zagreb.

Ispitanici i metode: Određena je vrijednost biljega HE4 i CA125 u 80 bolesnica s medijanom dobi 60 godina (21-85), elektrokemiluminiscentnom metodom na analizatoru Cobas 6000cee (ECLIA, Roche Diagnostics). Rezultati su obrađeni u statističkom programu MedCalc.

Rezultati: Bolesnice su podijeljene u dvije skupine. Jednu su skupinu činile bolesnice s benignim oboljenjima (N=28): endometrijoza, cista jajnika, dobroćudna novotvorina jajnika, leiomiom, a drugu bolesnice s malignim ginekološkim oboljenjem (N=52): zloćudna novotvorina jajnika, uterusa, cerviksa i bradavice. Medijan vrijednosti CA125 bio je 64,5 kIU/L (7,09-8277), dok je medijan vrijednosti HE4 bio 117,4 pmol/L (11,2-1999). Iako je površina ispod ROC krivulje za HE4 (AUC 0,790) veća od površine ispod ROC krivulje za CA125 (AUC 0,739), razlika u AUC nije statistički značajna (P=0,410). Kod granične vrijednosti CA125 (35 kIU/L) dobivena je osjetljivost od 92% uz specifičnost 43%, dok je za HE4 uz graničnu vrijednost od 140 pmol/L dobivena osjetljivost 53% i specifičnost od 82%.

Zaključak: Rezultati ovog ispitivanja u skladu su s aktualnim literaturnim podacima. Budući da se je na ispitivanoj populaciji CA125 pokazao biljegom veće osjetljivosti, a HE4 veće specifičnosti u dijagnostici ginekoloških malignih bolesti, osobito karcinoma jajnika, optimalna dijagnostička vrijednost postigla bi se istovremenim određivanjem oba ispitivana biljega.

e-adresa: ivana.lapic@hotmail.com

A05

Serumski slobodni laki lanci kao novi prognostički biomarker u kroničnoj limfocitnoj leukemiji

Blaženka Dobrošević, Mirjana Fijačko, Jasna Pavela, Barbara Vuković, Vatroslav Šerić

Odjel za kliničku laboratorijsku dijagnostiku, Klinički bolnički centar Osijek, Osijek, Hrvatska

Uvod: Kronična limfocitna leukemija B-stanica (B-CLL) je najčešća leukemija odrasle dobi. Oboljeva sta-

examine the diagnostic value of HE4 in patients referred to UHC Zagreb for determination of CA125.

Subjects and Methods: HE4 and CA125 markers were determined in 80 patients with median age 60 (21-85) by electrochemiluminescent method on Cobas 6000cee (ECLIA, Roche Diagnostics). Results were analyzed using statistical program MedCalc.

Results: Patients were divided into two groups: those with benign diseases (N=28): endometriosis, ovarian cysts, benign ovarian neoplasm, leiomyoma, and patients with malignant gynecological diseases (N=52): malignant ovarian, uterus, cervix and breast neoplasm. The median value of CA125 was 64.5 KIU/L (7.09-8277), while the median value of HE4 was 117.4 pmol/L (11.2-1999). Although the area under the ROC curve for HE4 (AUC 0.790) was larger than the area under the ROC curve for CA125 (AUC 0.739), the difference in AUCs was not statistically significant (P=0.410). The CA125 sensitivity of 92% and specificity of 43% was obtained by cut-off 35 KIU/L while for HE4 sensitivity was 53% and specificity 82% by cut-off 140 pmol/L.

Conclusion: Results of this study are consistent with current literature data. Since CA125 has been shown on studied population as a marker of greater sensitivity and HE4 of greater specificity in the diagnosis of gynecological malignancies, particularly ovarian cancer, optimal diagnostic value would be achieved by simultaneously determining the both studied markers.

e-mail: ivana.lapic@hotmail.com

A05

Serum free light chains as new prognostic biomarker in chronic lymphocytic leukemia

Blaženka Dobrošević, Mirjana Fijačko, Jasna Pavela, Barbara Vuković, Vatroslav Šerić

Department Of Clinical Laboratory Diagnostics, Clinical Hospital Centre Osijek, Osijek, Croatia

Introduction: Chronic lymphocytic leukemia B-cell (B-CLL) is the most common form of leukemia

rija populacija, medijan dobi kod dijagnoze je iznad 60 godina, uz odnos muškaraca i žena 2:1. Bolest ima nepredvidiv tijek, medijan preživljenja varira od 2-20 godina. Stoga, kontinuirano se radi na pronalaženju prognostičkih biomarkera preživljenja. Serumski β_2 -mikroglobulin, stanični biljezi CD38 i ZAP-70 poznati su neovisni prognostički biomarkeri za B-KLL. Na osnovu novih istraživanja povišene koncentracije serumskih slobodnih lakih lanaca povezane su sa lošijom prognozom u pacijenata s B-KLL –om. Cilj našeg istraživanja je usporediti koncentracije serumskih slobodnih lakih lanaca i koncentracije serumskog β_2 -mikroglobulina, kao klasičnog prognostičkog biomarkera, kod pacijenata s B-KLL-om.

Ispitanici i metode: Istražili smo retrospektivno 39 pacijenata (28 muškaraca i 11 žena, godina $69,03 \pm 11,1$) s novo dijagnosticiranim B-KLL-om. Svi su imali tipičan imunofenotip, koekspresiju staničnih biljega CD5, CD19, CD20 i CD23 uz restrikciju lakih lanaca kapa ili lambda, određen protočnom citometrijom. Svi pacijenti su imali izmjerene koncentracije serumskih slobodnih lakih lanaca kapa i lambda, te koncentraciju serumskog β_2 -mikroglobulina nefelometrijski (Siemens Healthcare Diagnostics, Marburg, Njemačka). Računski smo odredili ukupnu koncentraciju slobodnih lakih lanaca (kapa+lambda). Da bi utvrdili korelaciju između ukupnih serumskih slobodnih lakih lanaca i β_2 -mikroglobulina koristili smo statistički Spearman's rho test.

Rezultati: Na osnovu objavljenih literaturnih radova vrijednost ukupnih slobodnih lakih lanaca iznad 60 mg/L (cut off) je neovisan prognostički biomarker. Vrijednosti serumskog β_2 -mikroglobulina iznosile su 1,79-13,70 g/L (srednja vrijednost 5,04). Vrijednosti ukupnih slobodnih lakih lanaca iznosile su 13,4-520,2 mg/L (srednja vrijednost 111,8). Povišenu ukupnu koncentraciju slobodnih lakih lanaca iznad 60 mg/L ima 46% ispitanika. Ukupna koncentracija slobodnih lakih lanaca statistički značajno korelira s koncentracijom β_2 -mikroglobulina ($P=0,01$; $r=0,54$).

Zaključak: Rezultati su podudarni s ranije objavljenim literaturnim podacima. Ukupna koncentracija slobodnih lakih lanaca je dobar, rutinski dostupan biomarker preživljenja.

e-adresa: dobrosevic.blazenka@kbo.hr

among elderly. Male-to-female ratio is 2:1 with a median age of 60 years. It has unpredictable clinical course, median survival varies from 2-20 years. Because of this, continuous effort has been put into finding prognostic biomarkers useful for predicting survival. Serum β_2 -microglobulin, cell markers CD38 and ZAP-70 are established independent prognostic biomarkers in B-CLL. Recent data has shown that elevated levels of serum free light chains (sFLC) were shown to be adverse prognostic factor in B-CLL. The goal of our research is to compare the concentrations of sFLC with a concentrations of a well known prognostic biomarker, serum β_2 -microglobulin, among patients with B-CLL.

Subjects and Methods: We studied retrospectively 39 patients (28 male and 11 female, median age 69.03 ± 11.1) with newly diagnosed B-CLL. All patients had typical immunophenotype, coexpress CD5, CD19, CD20 and CD23, restricted kappa or lambda chain, determined by flow cytometry. All patients had retrospectively determined concentrations of sFLC kappa and lambda and concentration of β_2 -microglobulin by nephelometry (Siemens Healthcare Diagnostics, Marburg, Germany). By calculation we have determined the total concentration of sFLC (kappa+lambda). We used the statistic Spearman's rho test to determine the correlation between total sFLC and β_2 -microglobulin.

Results: Based on recent literature articles, the value of total sFLC above 60 mg/L (cut off) is a independent prognostic biomarker. Value of serum β_2 -microglobulin ranged from 1.79-13.70 g/L (mean 5.04). Value of total sFLC ranged from 13.4-520.2 mg/L (mean 111.8). Total concentration of sFLC was higher than 60 mg/L in 46% of patients. The total concentration of sFLC correlated significantly with the serum β_2 -microglobulin ($P=0.01$; $r=0.54$).

Conclusion: Our results match the ones from previously published literature articles. The concentration of total sFLC is a good, routinely available biomarker of survival.

e-mail: dobrosevic.blazenka@kbo.hr

B – Statistička obrada laboratorijskih podataka

B01

Rezultati laboratorijske primjene preporučenih kriterija za određivanje šećerne bolesti u trudnoći

Bojana Kranjčec¹, Jadranka Šanjug²

¹Medicinsko biokemijski laboratorij, Opća bolnica Zabok i bolnica hrvatskih veterana, Zabok, Hrvatska

²Odjel za ginekologiju i opstetrijiju, Opća bolnica Zabok i bolnica hrvatskih veterana, Zabok, Hrvatska

Uvod: Usporedba rezultata primjene oGTT testa kod trudnica prema kriterijima WHO iz 2006. god. mjerenjem koncentracije glukoze natašte i nakon 120 minuta te Standardnog laboratorijskog postupka za dijagnozu šećerne bolesti u trudnoći usklađen s preporukama IADPSG i preporučen od strane Povjerenstva za stručna pitanja HKMB, mjerenjem koncentracije glukoze natašte, nakon 60 minuta i nakon 120 minuta.

Ispitanici i metode: Prvoj skupini trudnica (N=259) rađen je oGTT test mjerenjem koncentracije glukoze u venskoj plazmi natašte, prije opterećenja s 75 g glukoze i nakon 120 minuta. Drugoj skupini trudnica (N=285) rađen je oGTT test mjerenjem koncentracije glukoze natašte prije opterećenja s 75 g glukoze, nakon 60 minuta i nakon 120 minuta. Koncentracija glukoze određivana je preporučenom enzimskom UV metodom s heksokinazom proizvođača Beckman Coulter na biokemijskom analizatoru BC AU 680, uz kontrolu prijeanalitičkih, analitičkih i poslijeanalitičkih uvjeta.

Rezultati: Primjenom kriterija WHO za dijagnozu šećerne bolesti u trudnoći uz graničnu vrijednost za koncentraciju glukoze natašte od 7 mmol/L i nakon 120 minuta od 7,8 mmol/L, u prvoj skupini od 259 trudnica izdvojena je 21 trudnica (8,1%) koja je imala jednu od tih vrijednosti koncentracije glukoze jednaku ili povišenu. Primjenom Standardnog laboratorijskog postupka za dijagnozu šećerne bolesti u trudnoći uz granične vrijednosti za koncentraciju glukoze natašte od $\geq 5,1$ mmol/L, nakon 60 minuta od $\geq 10,0$ mmol/L te nakon 120 minuta od $\geq 8,5$ mmol/L, u drugoj skupini od 285 trudnica izdvojeno je 73 trudnica (25,6%) koja su imale jednu od tih vri-

B – Statistical analysis of laboratory data

B01

Results of the recommended laboratory criteria appliance for determining diabetes in pregnancy

Bojana Kranjčec¹, Jadranka Šanjug²

¹Medical Biochemistry Laboratory, General Hospital Zabok and Hospital of Croatian Veterans, Zabok, Croatia

²Department of Gynecology and Obstetrics, General Hospital Zabok and Hospital of Croatian Veterans, Zabok, Croatia

Introduction: The comparison of oGTT test in pregnant women according to WHO criteria from 2006, with the Standard laboratory procedure for the diagnosis of diabetes in pregnancy which is in compliance with the recommendations of the IADPSG and which is recommended by the Commission for Professional Issues CCMB.

Subjects and Methods: For the first group of women the oGTT test was performed, measuring venous plasma glucose concentration before loading them with 75 g of glucose, and after 120 minutes. For the second group of pregnant women the oGTT test was performed which measured glucose concentration before loading with 75 g of glucose, after 60 and 120 minutes. The concentration of glucose was determined by BC enzymatic UV test (BC AU680), with supervising preanalytical, analytical and postanalytical conditions.

Results: Using WHO criteria for diagnosis of diabetes in pregnancy with the limit value for concentrations of fasting glucose of 7 mmol/L, and then after 120 minutes of 7.8 mmol/L, from the first group of 259 pregnant women, 21 (8.1%) who had one of these glucose concentrations equal or increased were singled out. By applying the Standard laboratory procedure for the diagnosis of diabetes in pregnancy with the limit values for fasting glucose of ≥ 5.1 mmol/L, after 60 minutes of ≥ 10.0 mmol/L, and after 120 minutes of ≥ 8.5 mmol/L, in the second group of 285 pregnant women, 73 (25.6%) which had value of the concentration of glucose equal or increased were singled out. The difference in proportions test demonstrated a statistically significant difference for the diagnosis of diabetes between these two groups.

jednosti koncentracije glukoze jednaku ili povišenu. Testom razlike proporcija dokazana je statistički značajna razlika za dijagnostiku šećerne bolesti između skupina ($P < 0,001$).

Zaključak: Kriteriji Standardnog laboratorijskog postupka za dijagnozu šećerne bolesti u trudnoći prema preporukama IADPSG i HKMB, u odnosu na tadašnje korištene preporuke WHO, detektiraju veću učestalost šećerne bolesti u trudnoći što je i u skladu s navodima iz literature.

e-adresa: bojanakranjcec@gmail.com

B02 (Usmeno izlaganje)

Razlika verifikacijskih protokola za ispitivanje preciznosti primjenjena na rutinskim koagulacijskim pretragama

[Sanda Jelisavac Ćosić¹](#), [Désirée Coen Herak²](#), [Vanja Radišić Biljak³](#)

¹Klinika za onkologiju, Klinički bolnički centar Zagreb, Zagreb, Hrvatska

²Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku, Klinički bolnički centar Zagreb, Zagreb, Hrvatska

³Klinički zavod za medicinsku biokemiju i laboratorijsku medicinu, Klinička bolnica Merkur, Zagreb, Hrvatska

Uvod: Cilj rada bio je usporediti rezultate analize preciznosti primjenjenom na rutinske koagulacijske pretrage prema dva verifikacijska protokola: mjerenjem u duplikatu tijekom deset dana (protokol 1) i mjerenjem u triplikatu tijekom pet dana (EP-15). EP-15 uveden je kao visoko učinkovit protokol koji smanjuje vrijeme i troškove verifikacije novih uređaja. Hipoteza rada je da ne postoji razlika rezultata dobivenih primjenom dva protokola.

Materijali i metode: Istodobno je provedena validacija uređaja ACL TOP 500 i ACL TOP 300 (Instrumentation Laboratory, Bedford, SAD) i pripadajućih Hemosll reagensa za: PV (PT RecombiPlasTin 2G), APTV (SynthASil), fibrinogen (Fibrinogen-C), AT (Liquid Antitrombin) i D-dimere (D-Dimer HS 500), uporabom komercijalnih kontrolnih plazmi Normal Control Assayed i Low Abnormal Control Assayed za PV, APTV, fibrinogen i AT te Low Control i High Control za D-dimere. Za svaki protokol izračunati su koeficijenti varijacije (CV), a kriterij za procjenu rezultata

Conclusion: The following Standard laboratory procedure for the diagnosis of diabetes in pregnancy as recommended by IADPSG and CCMB, in relation to the earlier used WHO recommendations, a greater incidence of diabetes in pregnancy, which is in line with the findings in the literature was detected.

e-mail: bojanakranjcec@gmail.com

B02 (Oral presentation)

The difference of verification protocols for precision assessment applied to routine coagulation tests

[Sanda Jelisavac Ćosić¹](#), [Désirée Coen Herak²](#), [Vanja Radišić Biljak³](#)

¹Department of Oncology and Radiotherapy, University Hospital Centre Zagreb, Zagreb, Croatia

²Department of Laboratory Diagnostics, University Hospital Centre Zagreb, Zagreb, Croatia

³Department of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, Merkur University Hospital, Zagreb, Croatia

Introduction: The aim of the study was to compare the precision study results applied to routine coagulation tests, obtained with two verification protocols: duplicate measurement during ten consecutive days (Protocol 1) and triplicate measurement during five consecutive days (EP-15). EP-15 was introduced as a highly efficient, time- and money-saving verification protocol. Our hypothesis was that there is no difference in results obtained with two protocols.

Materials and Methods: Simultaneous validation of coagulation analyzers Instrumentation Laboratory ACL TOP 500 and ACL TOP 300 (Bedford, USA) was performed using original Hemosll reagents for PT (PT RecombiPlasTin 2G), APTT (SynthASil), fibrinogen (Fibrinogen-C), AT (Liquid Antithrombin) and D-dimer (D-Dimer HS 500) and commercial control plasma samples Normal Control Assayed and Low Abnormal Control Assayed for PT, APTT, fibrinogen and AT, as well as, Low Control and High Control for D-dimer analysis. Coefficients of variation (CVs) were

bio je ukupni dozvoljeni CV naveden od proizvođača.

Rezultati: Primjenom oba protokola nije zabilježena razlika dobivenih CV-ova za pretrage APTV i D-dimere, te su u potpunosti zadovoljeni kriteriji proizvođača prema oba protokola. Za ostale ispitivane pretrage primjećen je porast CV-ova primjenom protokola EP-15 u odnosu na protokol 1, za 23% za fibrinogen do čak 241% za AT na ACL TOP 500, te za 26% za fibrinogen do 85% za AT na ACL TOP 300. Shodno tome kriterij proizvođača za fibrinogen zadovoljen je samo na ACL TOP 300 za obje koncentracijske razine, što nije bio slučaj za patološku koncentracijsku razinu na ACL TOP 500 primjenom protokola EP-15. Za PV je primjenom oba protokola zadovoljen kriterij proizvođača za obje koncentracijske razine na ACL TOP 500, dok su primjenom protokola EP-15 dobiveni CV-ovi za obje koncentracijske razine na ACL TOP 300 (2,85% i 3,60%) bili viši od kriterija proizvođača (2,2% i 3,1%).

Zaključak: Dobiveni rezultati ukazuju na razliku primijenjenih verifikacijskih protokola, o čemu je potrebno voditi računa.

e-adresa: jelisavaccosic.sanda@gmail.com

calculated for each protocol, and total allowable CV proposed by the manufacturer was considered as acceptance criteria.

Results: Among investigated parameters, no difference of CVs for PT and D-Dimer analysis, performed with two protocols, was observed, and the manufacturer criteria were fully achieved. For the remaining analysis increased CVs with the EP-15 protocol were noticed on both analyzers, compared to Protocol 1. The rise of CVs ranged from 23% for fibrinogen to 241% for AT on ACL TOP 500 and 26% for fibrinogen and 85% for AT on ACL TOP 300. However, manufacturer's criteria were achieved for fibrinogen on ACL TOP 300 for both concentration levels, while CVs (2.9% and 3.6%) obtained with the verification protocol EP-15 on ACL TOP 500, were slightly above the manufacturer's criteria (2.2% and 3.1%).

Conclusion: Our results showed the difference between the applied verification protocols for some analysis that has to be considered during the precision assessment.

e-mail: jelisavaccosic.sanda@gmail.com

B03

Praćenje rezultata QConnect run kontrola putem QConnect softvera u NAT probiru darivatelja krvi

Ivana Babić, Margareta Maslović, Jasna Bingulac-Popović, Vesna Đogić, Nina Juraković-Lončar, Melita Balija, Irena Jukić

Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu, Zagreb, Hrvatska

Uvod: Probir darivatelja krvi (DDK) u RH na krvlju prenosive viruse metodom detekcije nukleinskih kiselina (*nucleic acid testing, NAT*) koristi vanjske run kontrole za praćenje testiranja iz dana u dan. QConnect softver koristi EDC mrežu (*EDCNet*) za analizu i izradu grafikona u stvarnom vremenu koristeći podatke o kontrolama za skupinu istovrsnih korisnika. Evaluacijom rezultata NAT run kontrola u EDC mreži uočavaju se odstupajući rezultati/trendovi ovisno o lotu reagensa i run kontrola (HBV-DNA, HCV-RNA ili HIV-1 RNA) ili korištenom uređaju.

B03

QConnect run control result monitoring with QConnect software in blood donors NAT screening

Ivana Babić, Margareta Maslović, Jasna Bingulac-Popović, Vesna Đogić, Nina Juraković-Lončar, Melita Balija, Irena Jukić

Croatian Institute of Transfusion Medicine, Zagreb, Croatia

Introduction: Nucleic acid testing (NAT) screening procedure for blood born viruses in Croatian blood donors includes routine usage of external run controls to monitor daily testing variation. QConnect software through EDCNet enables real-time graphing and analysis of controls data using robust peer group data. Evaluation of NAT run controls results with EDCNet enables noticing deviating result/trend in performance of testing depending on lot reagents, run control (HBV-DNA, HCV-RNA or HIV-1 RNA positive) and instrument used.

Materijali i metode: NAT probir DDK u RH provodi se na pojedinačnim donacijama korištenjem Procleix Ultrio Plus testa na uređajima Tigris (Grifols, Španjolska). Test istovremeno otkriva prisutnost HBV-DNA, HCV-RNA i HIV-1 RNA temeljem rezultata umnožavanja posredovanog transkripcijom. Pomoću QConnect HBVDNA+, HCVRNA+ i HIV-1 RNA+ kontrola (Life Technologies LTD, UK) prati se iz dana u dan rad tri Tigris uređaja. Negativan rezultat NAT testiranja pozitivne *run* kontrole za posljedicu ima proglašavanje cijele serije testiranja invalidnom. Od lipnja 2014. započeli smo s dnevnim unosom podataka za lotove *run* kontrola i reagensa, rezultata testiranja-s/co vrijednosti i korištenih uređaja u EDC mrežu (NRL, Australija). Podaci se statistički obrađuju i prikazuju pomoću Levey-Jenning grafikona i grafikona raspršenja srednjih vrijednosti s naznačenim srednjim vrijednostima, ± 2 standardne devijacije (SD) za našu skupinu istovrsnih korisnika (osam laboratorija) i za naš laboratorij posebno.

Rezultati: Srednje vrijednosti naših rezultata su vrlo slične onima naše skupine korisnika. QConnect HIVRNA+ ima najvišu $\pm 2SD$ vrijednost ($12,06 \pm 1,64$) dok HCVRNA+ ima najnižu ($9,33 \pm 0,82$). Približno 4-5% naših rezultata smješteno je izvan područja $\pm 2SD$ te ne pokazuju nikakav trend u odstupanjima.

Zaključak: Korištenjem EDC mreže možemo sudjelovati u globalnoj kontrolnoj karti naše skupine istovrsnih korisnika i vrednovati naše rezultate u širem smislu. Uvrštavanjem većeg broja korisnika u našu grupu bit ćemo u mogućnosti dobiti još precizniju analizu kontrole našeg rutinskog rada.

e-adresa: ivana.babic@hztm.hr

B04

Usporedba kvalitete laboratorijskih procesa za mjerni postupak Troponin I

Adriana Unić, Lovorka Đerek, Nevenka Stančin

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

Uvod: Laboratorijski nalazi imaju značajan utjecaj na donošenje kliničkih odluka što čini kvalitetu cjelokupnog laboratorijskog ispitivanja izuzetno važnom.

Materials and Methods: Blood donors NAT screening in Croatia is performed on individual donation by using a Procleix Ultrio Plus test on Tigris instruments (Grifols, Spain). The test simultaneously detects HBV-DNA, HCV-RNA and HIV-1 RNA based on transcription mediated amplification (TMA). We use QConnect HBVDNA+, HCVRNA+ and HIV-1 RNA+ control (Life Technologies LTD, UK) to monitor daily performances of three Tigris instruments. NAT negative result for positive run control is causing invalidation of the run. From June, 2014 we started with daily data input for run controls lot, test results-s/co values, reagent lot and used instrument, in EDC-Net (NRL, Australia). The data are being statistically processed and displayed as Levey-Jenning chart and Mean/Scatter report with mean, $\pm 2SD$ values for our peer group (eight laboratories) and our laboratory in particular.

Results: Mean values of our results are very similar to those of our peer group. QConnect HIVRNA+ has highest $\pm 2SD$ value (12.06 ± 1.64) and HCVRNA+ lowest (9.33 ± 0.82). Approximately 4-5% of our results are outliers that do not show any trend.

Conclusion: Through EDCNet we are able to be part of global control chart of our peer group and to evaluate our results in broader context. By enrolment of more users in our peer group we will be able to obtain even more accurate data on our routine work control.

e-mail: ivana.babic@hztm.hr

B04

Comparison of quality of laboratory processes for Troponin I determination

Adriana Unić, Lovorka Đerek, Nevenka Stančin

Clinical Department of Laboratory Diagnostics, University Hospital Dubrava, Zagreb, Croatia

Introduction: Laboratory test results have major impact on clinical decision-making, which makes the quality of all laboratory processes extremely im-

Kako bi održali i unaprijedili kvalitetu potrebno je objektivno ocijeniti svaku fazu laboratorijskog procesa. Korištenje Six Sigma sustava omogućava usporedbu indikatora kvalitete i daje jasnu informaciju koji su procesi neprihvatljivi i zahtijevaju daljnje poboljšanje. Cilj rada bio je korištenjem Six Sigma ocijeniti i usporediti kvalitetu pojedinih procesa laboratorijskog rada za mjerni postupak troponin I (TnIDx, Beckman Coulter Inc.) u Kliničkom zavodu za laboratorijsku dijagnostiku KB Dubrava u razdoblju od 6. svibnja 2014. do 31. prosinca 2014.

Materijali i metode: Za procjenu kvalitete prijeanalitičke faze kao indikator kvalitete promatran je broj neprihvatljivih hemolitičnih uzoraka. Za ocjenu kvalitete analitičke faze korišteni su podaci preciznosti unutarnje kontrole kvalitete (tri koncentracijske razine) i podaci istinitosti iz programa vanjske kontrole kvalitete. Korišteni kriteriji prihvatljivosti su poželjne specifikacije temeljene na biološkoj varijabilnosti ($TEa < 27,91\%$). Za ocjenu kvalitete poslijeanalitičke faze kao indikator kvalitete korišten je TAT (engl. *turnaround time*). Kriterij za izdavanje nalaza troponina I je 60 minuta. Za izračun Sigma vrijednosti korišteni su kalkulatori dostupni na <http://www.westgard.com/six-sigma-calculators.htm>.

Rezultati: U promatranom razdoblju broj neprihvatljivih hemolitičnih uzoraka za određivanje troponina I iznosio je 3,7%. Na Six Sigma skali ocjena je 3,3. U istom razdoblju Sigma vrijednosti izvedbe metode za tri koncentracijske razine troponina I od 0,30 ug/L; 1,9 ug/L i 5,8 ug/L iznose redom 1,8; 3,0 i 5,3 za kriterije prihvatljivosti temeljene na biološkoj varijabilnosti. 12,71% rezultata za troponin I je izdano izvan postavljenih kriterija za TAT. Sigma vrijednost iznosi 2,7.

Zaključak: Kao najkritičniji proces pokazala se poslijeanalitička faza iako sva tri procesa zahtijevaju unaprjeđenje kvalitete i pažljivo dizajniranu strategiju kontrole. Iako su generalno laboratoriji sve više usmjereni na poboljšanje kvalitete prijeanalitičkih i poslijeanalitičkih procesa i kvaliteta analitičkih procesa unatoč značajnom napretku još uvijek ostavlja prostor za poboljšanje.

e-adresa: adrianaunic@gmail.com

portant. Therefore, it is necessary to objectively evaluate each phase of overall laboratory process. Six Sigma quality system enables the comparison of quality indicators and information on unacceptable processes which require further improvement. The aim of the study was to assess and compare the quality of individual process for determination of Troponin I (TnIDx, Beckman Coulter Inc.) in the Clinical Department of Laboratory Diagnostics, UH Dubrava in the six months period.

Materials and Methods: To assess the quality of preanalytical phase the number of hemolyzed samples was observed. To assess the quality of analytical phase the internal quality control precision (three concentration levels) and bias (from the external quality control program) data were analyzed. Desirable specifications based on biological variability were used as an acceptance criteria ($TEa < 27,91\%$). To assess the quality of postanalytical phase Turnaround time (TAT) was used. The acceptance criteria for issuing Troponin I results is 60 minutes. Sigma values were calculated using calculators available on <http://www.westgard.com/six-sigma-calculators.htm>.

Results: The percentage of unacceptable hemolytic samples for Troponin I determination was 3.7%, Sigma value 3.3. In that period, Sigma values for analytical performance on the three concentration levels of troponin I 0.3 g/L, 1.9 g/L and 5.8 g/L were 1.8, 3.0 and 5.3 respectively. 12.71% results of Troponin I were issued outside the established criteria for TAT, Sigma value 2.7.

Conclusion: Although all laboratory processes require improvement and carefully designed strategy of quality control, postanalytical phase had the lowest sigma value and thus requires additional improvement of its quality. Generally, laboratories are mainly focused on improving the quality of preanalytical and postanalytical processes but the quality of the analytical process, despite the significant progress, still leaves room for improvement.

e-mail: adrianaunic@gmail.com

B05

Procjena granične vrijednosti IgA anti-tTG specifične za djecu dijabetičare u svrhu njihovog probira na celijakiju

Merica Aralica, Jasminka Matica

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

Uvod: Djeca dijabetičari sklona su celijakiji zbog zajedničkih autoimunih mehanizama šećerne bolesti tip 1 (ŠB tip 1) i celijakije. Prema aktualnim kliničkim smjernicama IgA protutijelo na tkivnu transglutaminazu (IgA anti-tTG) preporuča se kao test probira za celijakiju u svakom sumnjivom ili visoko rizičnom slučaju. U laboratorijskoj praksi koristi se jedinstvena granična vrijednost deklarirana od proizvođača za sve osobe bez obzira na njihov klinički status. U skupini djece dijabetičara testirali smo takvu graničnu vrijednost IgA anti-tTG radi procjene njezine prikladnosti za ovu specifičnu kohortu.

Ispitanici i metode: Od 2002. do 2014. godine kod 149 djece dijabetičara određen je IgA anti-tTG enzimimunoanalizom (Euroimmun, Njemačka) uz graničnu vrijednost 20 RU/ml. Djeci je ranije dijagnosticirana ŠB tip I. Nitko nije imao selektivni manjak IgA. Sva djeca s pozitivnim nalazom podvrgnuta su biopsiji crijeva ako nisu imala serokonverziju u periodu od 9 mjeseci od početnog testiranja uz uobičajnu prehranu. Statistička analiza je načinjena pomoću statističkog programa MedCalc (Mariakerke, Belgija).

Rezultati: IgA anti-tTG bio je pozitivan u 14 djece dijabetičara s naknadno dobivenim pozitivnim nalazom biopsije. Jedno dijete imalo negativan rezultat IgA anti-tTG i pozitivan nalaz biopsije. Među 134 djece dijabetičara koji nemaju celijakiju lažno pozitivni rezultat IgA anti-tTG imalo je njih 15. Krivulja ROC pokazala je graničnu vrijednost 34,5 RU/ml u testiranoj skupini; površina ispod krivulje 0,934; 95%CI 0,882-0,968; $P < 0,05$. Kod granične vrijednosti 34,5 RU/ml IgA anti-tTG ima osjetljivost i specifičnost od 93,3% (95%CI 68,1-99,8) odnosno 91,0% (95%CI 84,9-95,3) u probiranoj skupini.

Zaključak: Krivulja ROC predlaže veću graničnu vrijednost za IgA anti-tTG od granične vrijednosti proizvođača u probiranoj skupini djece dijabetičara uz visoku osjetljivost i specifičnost. Upotreba granične vrijednosti IgA anti-tTG specifične za djecu dijabetičare mogla bi povećati njegovu dijagnostičku točnost i smanjiti broj nepotrebnih ponovnih testiranja djece sa slabo pozitivnim nalazom.

e-adresa: merica.aralica@gmail.com

Biochemia Medica 2015;25(Suppl 1):S1–S158

S66

B05

An estimation of IgA anti-tTG cut-off specific for celiac disease screening of diabetic children

Merica Aralica, Jasminka Matica

Clinical Department of Laboratory Diagnostics, Clinical Hospital Centre Rijeka, Rijeka, Croatia

Introduction: Diabetic children are prone to celiac disease (CD) due to autoimmune feature of both diseases. According to current clinical guidelines IgA anti tissue transglutaminase antibody (IgA anti-tTG) is recommended screening test for CD in every suspected or high risk case. In routine laboratory practice single IgA anti-tTG cut-off (producer provided) is reported for all screened individuals regardless their clinical status. In cohort of diabetic children we tested such IgA anti-tTG cut-off to estimate its utility for this specific group of pediatric patients.

Subjects and Methods: From 2002-2014, total of 149 diabetic children (ages <18 years) were screened by IgA anti-tTG using Enzyme Linked Immunoassay (Euroimmun, Germany); cut-off 20 RU/ml (all genders and ages). Children had previously diagnosed diabetes mellitus type I and no one had total serum IgA deficiency. All children with positive results underwent the bowel biopsy if they missed to turn out negative in period of nine months after initial positive screening result and regular gluten containing diet. Statistical analysis was done in MedCalc (Mariakerke, Belgium).

Results: IgA anti-tTG was positive in 14 diabetic children following positive biopsy results. One child had negative IgA anti-tTG but positive biopsy finding. Among all CD free diabetic children (N=134) false positive results of IgA anti-tTG had 15 of them. ROC curve analysis showed a cut-off of 34.5 RU/ml in screened cohort; an area under the ROC curve of 0.934 with 95%CI 0.882-0.968 and $P < 0.05$. At cut-off of 34.5 RU/ml IgA anti-tTG sensitivity and specificity are 93.3% (95%CI 68.1-99.8) and 91.0% (95%CI 84.9-95.3).

Conclusion: In screened cohort, ROC analysis proposed higher IgA anti-tTG cut-off with high sensitivity and specificity. Providing specific IgA anti-tTG cut-off for diabetic children may improve its diagnostic accuracy and clinical utility in sense of avoiding retesting patients with initial low positive screening results.

e-mail: merica.aralica@gmail.com

B06

Makroprolaktin – probir, da ili ne?

Adriana Bokulić, Ivana Zec, Valentina Vidranski, Željka Bukovec Megla, Iva Petek Tarnik, Iva Petek

Klinika za onkologiju i nuklearnu medicinu, Klinički bonički centar Sestre milosrdnice, Zagreb, Hrvatska

Uvod: U zdravih osoba, najčešći oblik prolaktina u cirkulaciji je monomerni prolaktin, ali su prisutni i oblici s većom molekularnom masom, kao big prolaktin i big-big prolaktin ili makroprolaktin. Makroprolaktin uzrokuje značajnu interferenciju u imunokemijskim metodama te učestalo dovodi do krive dijagnoze i liječenja pacijenata s hiperprolaktinemijom. U rutini, najčešće se koristi taloženje polietilenglikolom za uklanjanje interferencije makroprolaktina. Cilj je odrediti učestalost u populaciji naših odraslih pacijenata te odgovoriti na pitanje je li korisno uvesti taloženje u svakodnevnu praksu.

Ispitanici i metode: Od kolovoza 2014. do veljače 2015., svi uzorci odraslih pacijenata s koncentracijama prolaktina iznad gornje granice referentnog intervala (muškarci 381 mIU/L, žene 496 mIU/L), su podvrgnuti taloženju (N=380, medijan godina 37, min 19, max 84). Prolaktin prije i nakon taloženja je mjereno elektrokemiluminiscentnom metodom na analizatoru Cobas e601 (Roche, Mannheim, Germany). Taloženje je provedeno prema preporukama proizvođača. Uzorci s koncentracijama prolaktina nakon taloženja koji su unutar referentnog intervala, smatrani su lažnim hiperprolaktinemijama (muškarci 63-245 mIU/L, žene 75-381 mIU/L). Za provjeru razlike u pojavnosti makroprolaktina između spolova, korišten je hi-kvadrat test ($\alpha=0,05$).

Rezultati: Kod 343 (90%) uzoraka, koncentracija prolaktina nakon taloženja je bila povišena (57 muškaraca, 286 žena). Kod 37 (10%) uzoraka, koncentracija prolaktina nakon taloženja je bila unutar referentnog intervala (5 muškaraca, 32 žene) te je kod tih pacijenata prisutna lažna hiperprolaktinemija. Nije nađena razlika u pojavnosti između spolova ($P=0,802$).

Zaključak: Rezultati pokazuju da je kod 10% pacijenata prisutna lažna hiperprolaktinemija što može dovesti do nepotrebnih daljnjih pretraga, netočne dijagnoze i neodgovarajuće terapije. Kao rezultat ispitivanja, naš laboratorij provodi rutinski probir svih uzoraka s povišenom koncentracijom prolaktina, koristeći gornju granicu referentnog intervala kao gra-

B06

Macroprolactin – to screen or not to screen?

Adriana Bokulić, Ivana Zec, Valentina Vidranski, Željka Bukovec Megla, Iva Petek Tarnik, Iva Petek

Department of Oncology and Nuclear Medicine, University Hospital Centre Sestre milosrdnice, Zagreb, Croatia

Introduction: Monomeric prolactin is the most common form of circulating prolactin in healthy individuals, but forms with higher molecular mass are also present, such as big prolactin and big-big prolactin or macroprolactin. Macroprolactin is an important source of immunoassay interference and often leads to misdiagnosis and mismanagement of hyperprolactinemic patients. Precipitation with polyethylene glycol (PEG) is widely used to detect the presence of macroprolactin. Our aim was to assess macroprolactin incidence in hyperprolactinemic adults and to decide on its screening policy.

Subjects and Methods: From August 2014 to February 2015, all adult patients' samples with prolactin levels above corresponding upper reference limit (male 381 mIU/L, female 496 mIU/L) were tested for macroprolactin (N=380, median age 37, min 19, max 84). Pre-PEG and post-PEG prolactin measurements were performed with electrochemiluminescence method on Cobas e601 analyzer (Roche, Mannheim, Germany). Manufacturer's recommended procedure for PEG participation was used.

Post-PEG results within their corresponding reference range were considered as falsely hyperprolactinemic (male 63-245 mIU/L, female 75-381 mIU/L). Chi-square test was used to test for possible sex-dependent difference in incidence ($\alpha=0.05$).

Results: In 343 (90%) samples, post-PEG results were above post-PEG reference range (57 male and 286 female). In 37 (10%) samples, post-PEG results fell within post-PEG reference range (5 male, 32 female) and they could be classified as falsely hyperprolactinemic. There is no sex-dependent difference in incidence ($P=0.802$).

Conclusion: Results show that 10% of hyperprolactinemic patients are falsely classified which could lead to unnecessary investigation, incorrect diagnosis and inappropriate treatment. As a result of this study, our laboratory routinely screens all hyperprolactinemic samples for the presence of macroprolactin, using gender appropriate upper limit as a cut-

ničnu vrijednost. Iz probira se isključuju zahtjevi ponovljeni unutar 6 mjeseci, osim ako je već bila prisutna lažna hiperprolaktinemija.

e-adresa: adriana.bokulic@gmail.com

B07 (Usmeno izlaganje)

Izračun slobodnog testosterona: usporedba dvije formule

Tihana Pavošević, Iva Lukić, Sanja Mandić, Vesna Horvat, Vatroslav Šerić

Odjel za kliničku laboratorijsku dijagnostiku, Klinički bolnički centar Osijek, Osijek, Hrvatska

Uvod: Testosteron je steroidni hormon koji je ~97% u cirkulaciji specifično vezan za hormon koji veže spolne hormone (SHBG) i nespecifično za albumine, a samo mali dio je nevezan (slobodan). Slobodni testosteron (fT) biološki je aktivan oblik testosterona, a može se mjeriti direktnom metodom ili indirektno računskim metodama. Cilj ovog rada je usporediti dvije različite formule za izračun fT: (1) pomoću testosterona i SHBG-a i (2) pomoću testosterona, SHBG-a i albumina.

Materijali i metode: Analizirani su uzorci 172 ispitanika (58 muškaraca i 114 žena) kojima je zatražena analiza fT u Odjelu za kliničku laboratorijsku dijagnostiku KBC-a Osijek. U uzorcima seruma su izmjereni ukupni testosteron i SHBG imunokemijskom (CMIA) metodom na analizatoru Architect i1000SR, te albumini fotometrijskom metodom na analizatoru Olympus AU680. Pomoću navedenih parametara izračunat je postotak fT dvijema različitim metodama: (1) iz testosterona i SHBG-a i (2) iz testosterona, SHBG-a i albumina. Ispitanici su podjeljeni u skupine prema spolu, te je napravljena usporedba dobivenih rezultata Passing-Bablok regresijskom analizom u MedCalc programu, verzija 12.4.0.0. (MedCalc Software, Mariakerke, Belgija).

Rezultati: U skupini muškaraca prvom formulom bilo je 43% pacijenata čije su vrijednost fT bile iznad referentnog intervala, dok je u skupini žena takvih bilo 14%. Drugim izračunom u skupini muškaraca taj broj bio je znatno manji i iznosio je 10%, a u sku-

off. Screening excludes requests repeated within 6 months, unless they were, as a result of previous testing, classified as falsely hyperprolactinemic.

e-mail: adriana.bokulic@gmail.com

B07 (Oral presentation)

Free testosterone calculation: two equations comparison

Tihana Pavošević, Iva Lukić, Sanja Mandić, Vesna Horvat, Vatroslav Šerić

Department of Clinical Laboratory Diagnostics, Clinical Hospital Centre Osijek, Osijek, Croatia

Introduction: Testosterone is a steroid hormone. About 97% of testosterone in circulation is specifically bound to sex hormone-binding globulin (SHBG) and non-specifically to albumin, only small amount is unbound (free). Free testosterone (fT) represents the biologically active portion of the molecule and can be measured using direct method or indirect calculation methods. The aim of this study was to compare two different equations for calculating fT: (1) using testosterone and SHBG; (2) using testosterone, SHBG and albumin.

Materials and Methods: We analyzed 172 serum samples (58 men and 114 women) which were requested for fT analysis in our department. Total testosterone and SHBG were measured using CMIA (Architect i1000SR, Abbott) and albumin using photometric method (Olympus AU680, Beckman Coulter). Using the obtained values we calculated the percentage of fT applying two different methods: (1) from testosterone and SHBG; (2) from testosterone, SHBG and albumin. All subjects were classified in groups according to sex and results comparison was performed using Passing-Bablok regression analysis (MedCalc Software, Mariakerke, Belgium).

Results: Using the first equation in the group of men 43% of participants had fT values above the reference range, while in the group of women that percentage was only 14%. Using the second equation, in the group of men, fT values were considerably lower (10%) and in the group of women these valu-

pini žena ostao je isti. Passing-Bablok regresijskom analizom dobiveno je da u skupini žena nema razlike između ova dva načina izračuna ($y=0,0000(0,0000-0,0000)+1,0000(1,0000-10000)x$), dok je u skupini muškaraca utvrđeno da razlika postoji, te da je ona konstantna i neproporcionalna ($y=-1,5000(-2,4500-(-1,0600))+2,0000(1,8000-2,5000)x$).

Zaključak: Premda se u rutinskoj praksi uglavnom koristi izračun fT pomoću testosterona i SHBG-a, ispitanicima s vrijednostima fT izvan referentnog intervala trebalo bi izračunati fT formulom koja koristi i albumine, naročito kada su u pitanju muškarci.

e-adresa: tihanapavos@gmail.com

es remained unchanged. Passing-Bablok regression analysis showed no statistically significant difference in the group of women using these two calculation methods ($y=0.0000(0.0000-0.0000)+1.0000(1.0000-10000)x$), while in the group of men the difference was constant and disproportionate ($y=-1.5000(-2.4500-(-1.0600))+2.0000(1.8000-2.5000)x$).

Conclusion: Although calculation of fT using testosterone and SHBG is mainly used in the routine practice, subjects who have fT values outside of the reference range should be calculated using the equation for fT that includes albumin, especially in the case of men.

e-mail: tihanapavos@gmail.com

C - Harmonizacija u laboratorijskoj medicini

C01

Uvid u određivanje antinuklearnih antitijela (ANA) u Hrvatskoj - rezultati ankete radne grupe Hrvatskog društva za medicinsku biokemiju i laboratorijsku medicinu (HDMBLM) za laboratorijsku dijagnostiku autoimunih bolesti

Lovorka Đerek¹, Andrea Tešija Kuna², Ana Kozmar³, Vedrana Drvar⁴

¹Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku, Klinička bolnica Dubrava, Zagreb, Hrvatska

²Klinički zavod za kemiju, Klinički bolnički centar Sestre milosrdnice, Zagreb, Hrvatska

³Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku, Klinički bolnički centar Zagreb, Zagreb, Hrvatska

⁴Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku, Klinički bolnički centar Rijeka, Rijeka, Hrvatska

Uvod: Porast učestalosti autoimunih bolesti prati sve veća zastupljenost humoralne imunodijagnostike u rutinskom radu laboratorija. Cilj anketnog istraživanja bio je stjecanje uvida u broj i vrstu laboratorija koji se bave humoralnom dijagnostikom te metodologiju i dijagnostičke algoritme koji se koriste prilikom izvođenja pretrage ANA.

C - Harmonization in laboratory medicine

C01

Insight in antinuclear antibodies (ANA) determination in Croatia – survey results of Croatian Society of Medical Biochemistry and Laboratory Medicine (CSMBLM) working group for guidelines in laboratory diagnosis of autoimmune diseases

Lovorka Đerek¹, Andrea Tešija Kuna², Ana Kozmar³, Vedrana Drvar⁴

¹Clinical Department for Laboratory Diagnostics, University Hospital Dubrava, Zagreb, Croatia

²University Department of Chemistry, University Hospital Centre Sestre milosrdnice, Zagreb, Croatia

³Department of Laboratory Diagnostics, University Hospital Centre Zagreb, Zagreb, Croatia

⁴Clinical Department for Laboratory Diagnostics, Clinical Hospital Centre Rijeka, Rijeka, Croatia

Introduction: The increase in the prevalence of autoimmune diseases is followed by an increase in humoral immunodiagnostics in routine laboratory work. The objective was to gain insight into a number and type of Croatian laboratories that are performing humoral diagnostics, methodology and di-

Materijali i metode: Anketa je izrađena i objavljena koristeći SurveyMonkey aplikaciju i 26.9.2014 poslana na e-mail adrese voditelja 88 laboratorija u sekundarnoj i tercijarnoj zdravstvenoj zaštiti, te u privatnim ustanovama. Anketa je sadržavala 17 pitanja i zaključena je 22.4.2015.

Rezultati: Na anketu je odgovorilo 80/88 laboratorija. Analize iz područja humoralne imunodijagnostike radi 33/80 laboratorija: 16 opće/županijske bolnice, 13 kliničke bolnice/klinički bolnički centri, 13 privatne ustanove, 5 specijalne bolnice. ANA se određuje u 16/33 laboratorija. ANA probir radi se metodom indirektno imunofluorescencije na Hep-2 stanicama (IIF) u 7/16, fluoroenzim-imuno metodom (FEIA) u 5/16, enzimimuno metodom (ELISA) u 3/16 laboratorija i line-imuno metodom (LIA) u 1/16 laboratorija. Određivanje specifičnosti ANA: a) anti-dsDNA antitijela određuju se u 15 laboratorija metodama: FEIA (6/15), ELISA (5/15), Multiplex-imuno metodom (MIA) (3/15) i IIF (1/15), b) antitijela na ekstraktibilne nuklearne antigene (ENA) u 13 laboratorija metodama: ELISA (4/13), MIA 3/13, FEIA 4/13, LIA 1/13 i FEIA+LIA 1/13, c) antitijela na centromerne proteine (CENP), histone i nukleosome određuju se sporadično. Od sedam laboratorija koji koriste IIF-ANA probir, 5 određuje titar i opisuje tip fluorescencije. Ukoliko je ANA probir pozitivan, neovisno o metodi, 6/14 laboratorija ne određuje specifičnost antitijela, 4/14 radi ovisno o titru ANA, 2/14 radi ovisno o tipu fluorescencije, dok 2/14 laboratorija rade sve zatraženo. Među laboratorijima koji ANA probir rade drugom metodom (ne IIF), samo 5/10 laboratorija navodi obuhvaćene antigene. **Zaključak:** Rezultati ukazuju na nužnost izrade preporuka i algoritma u svrhu ujednačavanja pristupa laboratorijskoj dijagnostici sistemskih autoimunih bolesti na razini Hrvatske.

e-adresa: vedranadrvar@gmail.com

agnostic algorithms that are used in ANA determination.

Materials and Methods: A survey was created and published using SurveyMonkey application. It was sent on 26/9/2014 to 88 laboratories in secondary, tertiary health care and private institutions, and closed on 22/04/2015.

Results: Of 80 laboratories that answered the questionnaire 33 perform humoral immunodiagnostics: 16 in general/county hospitals, 13 in clinical hospitals/clinical hospital centers, 13 in private institutions, 5 in specialized hospitals. ANA is determined in 16/33 laboratories. ANA screening is performed using indirect immunofluorescence (IIF)/Hep-2 in 7/16, fluoro enzyme immunoassay (FEIA) in 5/16, line immunoassay (LIA) in 1/16 and enzyme immunoassay (ELISA) in 3/16 laboratories. Anti-dsDNA antibodies are determined in 15 laboratories using: FEIA (6/15), ELISA (5/15), multiplex immunoassay (MIA) (3/15) and IIF (1/15) methods. Antibodies to extractable nuclear antigens (ENA) are determined in 13 laboratories using: ELISA 4/13, FEIA 4/13, MIA 3/13, LIA 1/13 and FEIA+LIA 1/13. Antibodies to centromere (CENP), histones and nucleosomes are determined sporadically. For ANA/IIF 5/7 laboratories determine titer and type of fluorescence. If the ANA screening test is positive: 6/14 laboratories do not determine specificity, 2/14 laboratories determine every ordered antibody, 4/14 determines antibody specificity depending on ANA titer and 2/14 depending on the type of fluorescence. When another screening method is used (beside IIF), 5/10 laboratories report covered antigens.

Conclusion: Results indicate the need of creating recommendations and algorithms in order to harmonize the approach to laboratory diagnostics of systemic autoimmune diseases in Croatia.

e-mail: vedranadrvar@gmail.com

D – Biljezi bolesti bubrega i mokraćnog sustava

D01

Učestalost mikrohematurije kod muškaraca iznad 35 godina

Zorana Todorčić¹, Suzi Žlabravec², Dunja Turner², Mirjana Sikirica²

¹Poliklinika LabPlus, Split, Hrvatska

²Poliklinika LabPlus, Zagreb, Hrvatska

Uvod: Cilj rada bio je procijeniti učestalost mikrohematurije kod muškaraca iznad 35 godina u Poliklinici LabPlus.

Ispitanici i metode: U 100 uzoraka svježe mokraće (muškarci iznad 35 godina) određivali smo broj eritrocita (Erc) na automatiziranom sustavu LabUMat/UriSed (77 Elektronika Kft, Budapest, Hungary) koji radi na načelu refraktometrije (test traka) i manualne mikroskopije (sediment), te usporedno i svjetlosnom mikroskopijom vlažnog preparata, supravitalno obojenog sedimenta mokraće priređenog prema preporukama europske grupe za analizu mokraće.

Rezultati: 23/100 ispitanika imalo je pozitivan nalaz eritrocita/hemoglobin (Erc/Hb) na test traci. Kod 3/23 nalaz na test traci bio je 10 Erc/Hb/ μ L i negativan po vidnom polju (VP); 4/23 su imali na test traci 10-50 Erc/Hb/ μ L i 2-5 Erc/VP uz prisutnost kristala kalcijeva oksalata; 3/23 imali su 50-300 Erc/Hb/ μ L i 1-4 Erc/VP uz visoku aktivnost kreatin kinaze i proteinuriju (<0,3 g/L). 4/23 su imali na test traci 10-50 Erc/Hb/ μ L i 1-3 Erc/VP uz PSA 2-4 μ g/L. Kod 4/30 nađeno je 10 Erc/Hb/ μ L i 1-5 Erc/VP i leukociturija. Kod 9/23 nađeno je 10-50 Erc/Hb/ μ L i 1-3 Erc/VP, bez drugih patoloških nalaza.

Zaključak: Mikrohematurija je gotovo uvijek slučajni i često zanemarivan nalaz. Može biti posljedica raznih benignih, ali i malignih bolesti. Prvi pokazatelj neoplazmi uroepitela je izolirana mikrohematurija. Kako je >3 Erc/VP velikog povećanja prema smjernicama Američkog urološkog društva (AUA) indikacija za daljnju obradu, potrebno je svaki pozitivan nalaz potvrditi kroz tri slučajna uzorka. Ukoliko je mikrohematurija i dalje prisutna, treba odrediti porijeklo eritrocita. Ako su eritrociti dismorfni, potrebna je nefrološka, a ako se radi o nativnim eritrocitima, potrebna je urološka obrada bolesnika. Iz dobivenih

D – Markers of kidney and urinary tract diseases

D01

Frequency of microhematuria in men older than 35

Zorana Todorčić¹, Suzi Žlabravec², Dunja Turner², Mirjana Sikirica²

¹Polyclinic LabPlus, Split, Croatia

²Polyclinic LabPlus, Zagreb, Croatia

Introduction: The aim of the project was to estimate the frequency of microhematuria in men older than 35 in the polyclinic LabPlus.

Subjects and Methods: One hundred samples of fresh urine (men older than 35) were used to determine number of erythrocytes (Erc) by automated system LabUMat/UriSed (77 Elektronika Kft, Budapest, Hungary). System works by a refractometry principle (dipstick) and manual microscopy (sediment) comparatively to light microscopy of a wet sample which is supravitally coloured urine sediment, prepared in accordance with recommendations of the European group for urine analysis.

Results: 23/100 patients had positive results in erythrocytes/hemoglobin (Erc/Hb) on a dipstick. 3/23 results on a dipstick had 10 Erc/Hb/ μ L and negative in the high power field (HPF); 4/23 had a dipstick results 10-50 Erc/Hb/ μ L and 2-5 Erc/HPF with presence of calcium oxalate; 3/23 had 50-300 Erc/Hb/ μ L and 1-4 Erc/HPF with creatine kinase activity and proteinuria (<0.3 g/L). 4/23 patients had a dipstick result 10-50 Erc/Hb/ μ L and 1-3 Erc/HPF with PSA 2-4 μ g/L. 4/30 patients had 10 Erc/Hb/ μ L and 1-5 Erc/HPF with leukocyturia. 9/23 patients had 10-50 Erc/Hb/ μ L and 1-3 Erc/HPF without any other pathological results.

Conclusion: Microhematuria is almost always accidental and often neglected result. It can be a consequence of various benign but also malignant diseases. The first indicator of neoplasma urothelium is isolated microhematuria. According to American Urological Association (AUA) more than 3 Erc/HPF is first indicator for further analysis and it is necessary to confirm positive results in three random samples. If microhematuria is still present, it is necessary to find the origins of the erythrocytes. Dysmorphic erythrocytes need further nephrological and native

rezultata možemo zaključiti da oko 10% bolesnika s mikrohematurijom zahtijeva daljnju obradu ili liječenje.

e-adresa: zoranatodoric@gmail.com

erythrocytes need urological analysis. Results show that 10% of patients with microhematuria demand further analysis and treatment.

e-mail: zoranatodoric@gmail.com

E – Molekularna dijagnostika

E01 (Usmeno izlaganje)

Utjecaj polimorfizama CYP3A4/5 i CYP2D6 na serumske koncentracije risperidona i 9-hidroksirisperidona kod pacijenata na terapiji pripravkom risperidona s produljenim oslobađanjem

Lana Ganoci¹, Mila Lovrić¹, Maja Živković², Marina Šagud³, Nada Božina¹

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

²Klinika za psihijatriju Vrapče, Zagreb, Hrvatska,

³Klinika za psihijatriju, Klinički bolnički centar Zagreb, Zagreb, Hrvatska

Uvod: Risperidon (RIS) se metabolizira u aktivni oblik 9-hidroksirisperidon (9-OHRIS) uglavnom putem enzima CYP2D6 i u manjoj mjeri putem CYP3A4/5. Antipsihotični učinak risperidona pripisuje se zajedničkom djelovanju RIS i 9-OHRIS. Cilj ove studije je istražiti ulogu genetičkih varijacija CYP2D6 *dupl,*3,*4,*5,*6,*41, CYP3A4*22 and CYP3A5*3 na serumske koncentracije i metabolički omjer RIS i 9-OHRIS.

Ispitanici i metode: 70 pacijenata sa shizofrenijom na terapiji pripravkom risperidona s produljenim oslobađanjem (RIS-LAI) (raspon doza 25-75 mg) su genotipizirani, te su određene ravnotežne serumske koncentracije RIS i 9-OH RIS na 5 i 14 dan. CYP2D6 *dupl i alel *5 analizirani su PCR metodom, dok su metodom TaqMan[®] PCR u stvarnom vremenu analizirani CYP2D6 aleli *3,*4,*6,*41, te CYP3A4*22 i CYP3A5*3. Koncentracije RIS i 9-OH RIS određene su kromatografskom metodom na HPLC-DAD.

Rezultati: Distribucija genotipa CYP2D6: 34 brza metabolizatora (EM), 23 intermedijarna metabolizatora (IM), 5 sporih metabolizatora (PM), 3 vrlo brza metabolizatora (UM) i 5 duplikacija varijantnih alela. Medijan zbroja koncentracija RIS i 9-OHRIS na 5

E – Molecular diagnostics

E01 (Oral presentation)

The influence of CYP3A4/5 and CYP2D6 polymorphisms on serum concentrations of risperidone and 9-hydroxyrisperidone in patients using long-acting injectable risperidone

Lana Ganoci¹, Mila Lovrić¹, Maja Živković², Marina Šagud³, Nada Božina¹

¹Department of Laboratory Diagnostics, University Hospital Centre Zagreb, Zagreb, Croatia

²Psychiatric Hospital Vrapče, Zagreb, Croatia

³Department of Psychiatry, University Hospital Centre Zagreb, Zagreb, Croatia

Introduction: Risperidone (RIS) is metabolized to its active metabolite 9-hydroxyrisperidone (9-OHRIS), mainly by the enzyme CYP2D6 and, to a lesser extent by CYP3A4/5. Its antipsychotic effect is assumed to be related to the active moiety of RIS and 9-OHRIS. The aim of this study is to investigate the role of genetic variations of CYP2D6 *dupl,*3,*4,*5,*6,*41, CYP3A4*22 and CYP3A5*3 on serum concentrations and metabolic ratio of RIS and 9-OHRIS.

Subjects and Methods: 70 patients with schizophrenia treated with long-acting risperidone (RIS-LAI) (dose range 25-75 mg) were genotyped, and their serum steady-state concentrations of RIS and 9-OH RIS were measured on 5th and 14th day. Analysis for CYP2D6 *dupl and allele *5 was performed by PCR, while real-time PCR analysis by TaqMan[®] assays was performed for genotyping of CYP2D6 alleles *3,*4,*6,*41, CYP3A4*22 and CYP3A5*3. Concentrations of RIS and 9-OH RIS were measured by HPLC-DAD.

Results: The genotype distribution for CYP2D6 was: 34 extensive metabolizers (EM), 23 intermediate metabolizers (IM), 5 poor metabolizers (PM), 3 ultrapid metabolizers (UM) and 5 duplications of variant

dan je bio 76,4 nmol/L (95%CI=56,8-102,2), te na 14 dan 42,3 nmol/L (95%CI=34,1-52,4). Koncentracije RIS + 9-OHRIS na 14 dan su se statistički značajno razlikovale ovisno genotipu *CYP2D6* (Kruskall-Wallis test, $P=0,042$). Genotipizacija *CYP2D6**41 i metabolički omjer RIS/RIS-OH otkrili su još 3 PM i 3 IM. Nije bilo značajnog utjecaja varijanata *CYP3A4**22 i *CYP3A5**3. **Zaključak:** Genotip *CYP2D6* je pokazao značajan utjecaj na ravnotežne koncentracije RIS i 9-OHRIS. Genotipizacija *CYP2D6**41 važna je za dodatno otkrivanje *CYP2D6* PM i IM. Vrijednosti koncentracija RIS i 9-OHRIS kod UM na 5 i 14 dan su bile niže od preporučenog terapijskog raspona. *CYP3A4**22 i *CYP3A5**3 nisu pokazali utjecaj na ravnotežne koncentracije lijeka.

e-adresa: lana.pejnovic@gmail.com

alleles. The median active moiety concentrations were on 5th day 76.4 nmol/L (95%CI=56.8-102.2), on 14th day 42.3 nmol/L (95%CI=34.1-52.4). The active moiety concentrations on 14th day were significantly different according to *CYP2D6* genotype (Kruskall-Wallis test, $P=0.042$). Genotyping of *CYP2D6**41 and metabolic ratio RIS/RIS-OH revealed 3 more patients to be PM and 3 IM. No significant influence of *CYP3A4**22 and *CYP3A5**3 variants was found.

Conclusion: The *CYP2D6* genotypes had a strong influence on the steady-state serum levels of RIS and 9-OHRIS. Genotyping of *CYP2D6**41 is important for detection of additional *CYP2D6* PM and IM. The active moiety concentrations for UM on 5th and 14th day were below recommended therapeutic range. *CYP3A4**22 and *CYP3A5**3 did not show influence on the steady-state serum drug concentrations.

e-mail: lana.pejnovic@gmail.com

E02

Genotipizacija interleukin 28 b polimorfizma rs12979860 i praćenje odgovora na antivirusnu terapiju kod bolesnika s kroničnim hepatitisom C

Jasna Bingulac-Popović¹, Nadia Komparić², Ivana Furčić³, Vesna Đogić¹, Ivana Babić¹, Jadranka Žgrablić-Cetina², Ivana Babić², Irena Hrstić², Nina Juraković-Lončar¹, Melita Balija¹, Irena Jukić¹

¹Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu, Zagreb, Hrvatska

²Opća bolnica Pula, Pula, Hrvatska

³Institut za antropologiju, Zagreb, Hrvatska

Uvod: Genski polimorfizmi u genu interleukin 28B (*IL28B*) utječu na spontano izlječenje ili uspješnost liječenja hepatitis C (HCV) infekcije. Bolesnici sa *CC* genotipom rs12979860 *IL28B* SNP imaju veću vjerojatnost eliminacije HCV-a od bolesnika s *TT* ili *CT* genotipom. *CC* genotip također predviđa dvostruko veću vjerojatnost da se postigne održivi virološki odgovor (SVR) tijekom terapije u usporedbi s drugim genotipovima. Cilj istraživanja bio je odrediti virološki odgovor na terapiju kod bolesnika s kroničnom HCV infekcijom s obzirom na genotip *IL28B* polimorfizma. **Ispitanici i metode:** Bolesnici liječeni u OB Pula podijeljeni su u dvije skupine: 1- na dvojnoj tera-

E02

Genotyping of interleukin 28 b polymorphism rs12979860 and prediction of viral response to therapy in chronic hepatitis C patients

Jasna Bingulac-Popović¹, Nadia Komparić², Ivana Furčić³, Vesna Đogić¹, Ivana Babić¹, Jadranka Žgrablić-Cetina², Ivana Babić², Irena Hrstić², Nina Juraković-Lončar¹, Melita Balija¹, Irena Jukić¹

¹Croatian Institute of Transfusion Medicine, Zagreb, Croatia

²General Hospital Pula, Pula, Croatia

³Institute for Anthropological Research, Zagreb, Croatia

Introduction: Genetic polymorphisms in the interleukin 28B (*IL28B*) gene has been found to predict spontaneous clearance or successful treatment of HCV infection. Patients with *CC* genotype of rs12979860 *IL28B* SNPs are more likely to eliminate HCV than those with *TT* or *CT* genotype. Patients with *CC* genotype were twice as likely to achieve an SVR compared with patients with other genotypes. Aim of the study was to determine the virological response to therapy in patients with chronic HCV infection due to the *IL28B* genotype polymorphism. **Subjects and Methods:** The patients group from General Hospital Pula are divided into two groups:

piji s pegiliranim interferonom alfa-2a + ribavirinom (N=9) i 2- na trojnoj terapiji s inhibitorima NS3/4A-proteaze (N=13). Nakon izolacije genomске DNA, određen je *IL28B* genotip bolesnika pomoću validirane „in house“ RT-PCR metode na uređaju ABI 7500 real-time PCR system. Virusni HCV-RNA titar i genotip su određeni prije liječenja kao status viremije korištenjem komercijalnih kitova na COBAS AmpliPrep/COBAS TaqMan analizatoru. **Rezultati:** Od 9 bolesnika na dvojnjoj terapiji bilo je 5 CC genotipa, 3 CT i 1 TT i svi su povoljno reagirali na terapiju. Od 13 bolesnika na trojnoj terapiji bilo je 3 CC, 8 CT i 2 TT genotipa. 5/13 bolesnika isključeno je s terapije zbog lošeg odgovora od toga 1 je CC, 4 CT genotipa *IL28B* i svi HCV genotipa 1 te subtipa 1a i 1b koji lošije reagiraju na terapiju. Ukupno gledajući, 5/13 bolesnika bilo je non-respondera, od toga 1/5 CC genotipa *IL28B* (20%) a ostalih 4/5 (80%) bolesnika bilo je ne-CC genotipa.

Zaključak: Preliminarni rezultati pokazuju nešto bolji odgovor na terapiju kod bolesnika s kroničnom HCV infekcijom nositelja CC genotipa *IL28B* polimorfizma. S obzirom da se u trojnu terapiju uključuje sve više bolesnika u RH, studija se nastavlja što će omogućiti značajniju statističku usporedbu.

e-adresa: jasna.bingulac-popovic@hztm.hr

1- on dual therapy with pegylated interferon alfa-2a + ribavirin (N=9) and 2- on triple therapy with NS3/4A protease inhibitors (N=13). After isolation of the genomic DNA, *IL28B* genotype was determined using “in house” validated RT-PCR on an ABI 7500 real time PCR system. Viral load and genotype were determined prior to treatment using commercial kits on the COBAS AmpliPrep/COBAS TaqMan analyzer.

Results: In the group of the patients on dual therapy with good respond to therapy, 5/9 were CC, 3 CT and 1 TT genotype. Of the 13 patients on triple therapy, 3 of them were CC, 8 CT and 2 TT genotypes as well. 5/13 patients with viral genotype 1; subtypes 1a and 1b were excluded from therapy due to poor response (1 CC, 4 CT). Overall, 5/13 patients were non-responders, of which 1/5 *IL28B* was CC genotype (20%) and the remaining 4/5 (80%) patients were non-CC genotype.

Conclusion: Preliminary results show slightly better response to therapy in chronic HCV patients carriers of CC *IL28B* genotype polymorphism. The study continues with including more patients to the triple therapy in Croatia, which will enable significant statistical comparison.

e-mail: jasna.bingulac-popovic@hztm.hr

F - Automatizacija laboratorijskih postupaka i procesa

F01

Detekcija parazita malarije pomoću hematološkog analizatora Beckman Coulter® DXH800

Sanja Kozic Dokmanovic¹, Valentina Vidranski², Vedrana Jukić¹, Zdravka Čulig¹, Martina Kramar¹, Adrijana Dorotic¹, Renata Laškaj¹, Anita Klasić³

¹Odjel za biokemiju i hematologiju, Klinika za infektivne bolesti “Dr Fran Mihaljević”, Zagreb, Hrvatska

²Klinika za onkologiju i nuklearnu medicinu, Klinički bolnički centar Sestre Milosrdnice, Zagreb, Hrvatska

³Specijalna bolnica za medicinsku rehabilitaciju Krapinske Toplice, Krapinske Toplice, Hrvatska

Uvod: Prevalencija infekcije uzrokovane parazitom malarije u Hrvatskoj je niska, a najčešće je vezana uz

F - Automatization of procedures and processes in laboratory medicine

F01

Malaria detection on DXH800 Beckman Coulter® hematology analyzer in non-endemic area

Sanja Kozic Dokmanovic¹, Valentina Vidranski², Vedrana Jukić¹, Zdravka Čulig¹, Martina Kramar¹, Adrijana Dorotic¹, Renata Laškaj¹, Anita Klasić³

¹Department for biochemistry and hematology, University hospital for infectious diseases “Dr Fran Mihaljević”, Zagreb, Croatia

²Department of Oncology and Nuclear Medicine, University Hospital Centre Sestre milosrdnice, Zagreb, Croatia

³Special Hospital for Medical Rehabilitation Krapinske Toplice, Krapinske Toplice, Croatia

Introduction: The prevalence of malaria infection in Croatia is low and usually associated with traveling

putovanja u endemska područja. Zlatni standard za dokazivanje parazita malarije u krvi je mikroskopski pregled krvnog razmaza, no metoda zahtijeva vrlo dobro educirane laboratorijske djelatnike. Hematološki analizatori čiji se princip rada bazira na VCS tehnologiji (V-volumen, C-vodljivost, S-rasap), mjere volumene limfocita i monocita, a oni se značajno povećavaju u prisutnosti parazita malarije. Briggs C je sa suradnicima 2006. godine predstavila tzv. "Malaria factor", umnožak SD volumena limfocita i monocita/100, a tijekom infekcije malarijom je u pravilu veći od 3,7. Ostali hematološki parametri, kao što su: broj trombocita $<150 \times 10^9/L$, $<0,15\%$ eozinofila, dodatni vršak u histogramu leukocita, SD volumena monocita $>23,2$ i srednja vrijednost volumena monocita veća od 180 fL povećavaju specifičnost procjene.

Materijali i metode: Na hematološkom analizatoru Beckman Coulter® DXH800

retrospektivno su analizirani rezultati kompletne krvne slike (KKS) s dodatnim parametrima za 12 pacijenata kojima je dokazana malarija.

Rezultati: Faktor malarije $>3,7$ dokazan je u 10/12 pacijenata (medijan 5,9; interkvartilni raspon (IQR): 5,1-7,0), Broj trombocita $<150 \times 10^9/L$ izmjeren je u 8/12 pacijenata (medijan 99; IQR: 62-171 $\times 10^9/L$), postotak eozinofila $<0,15\%$ izmjeren je u 4/12 pacijenata (medijan 0,2; IQR: 0,1-1,2), prisutnost dodatnog vrška na histogramu leukocita nađen je u 9/12 pacijenata, SD volumena monocita $>23,2$ izmjerena je u 9/12 pacijenata (medijan 26,5; IQR: 23,3-28,9), srednja vrijednost volumena monocita >180 fL izmjerena je u 9/12 pacijenata (medijan 191; IQR: 187,5-196,5).

Zaključak: Hematološki analizator Beckman Coulter® DXH800 detektirao je promjene povezane s infekcijom malarije kod većine naših pacijenata. Predstavljeni algoritam za detekciju malarije može se provesti tijekom redovne KKS analize te upozoriti djelatnika na moguću infekciju malarijom. Svaki pozitivan rezultat potrebno je potvrditi mikroskopskom analizom.

e-adresa: sanja.kozic1@gmail.com

to endemic areas. A microscopic examination of blood smear is the gold standard for malaria parasite detection, but time consuming and requiring a well trained laboratory personnel. Hematology analyzers that use VCS (V-Volume, C-Conductivity, S-Scatter) technology, as DxH800 Beckman Coulter®, may detect lymphocytes and monocytes volume changes caused by malaria infection. In 2006, Briggs C. et al introduced the «malaria factor», a number calculated from lymphocyte and monocyte volume SD. During malaria infection, it should be greater than 3.7. Additional parameters as platelet count $<150 \times 10^9/L$, eosinophil percentage $<0.15\%$, presence of additional peak at threshold of WBC histogram, SD volume of monocytes >23.2 and a mean volume of monocytes >180 improve specificity.

Materials and Methods: We retrospectively collected results of CBC analysis for 12 patients with proved malaria infection.

Results: Malaria factor >3.7 was found in 10/12 patients (median 5.9, IQR: 5.1-7.0), platelet count $<150 \times 10^9/L$ was found in 8/12 patients (median 99, IQR: 62-171 $\times 10^9/L$), eosinophil percentage $<0.15\%$ was found in 4/12 patients (median 0.2, IQR: 0.1-1.2), presence of additional peak at threshold of WBC histogram was found in 9/12 patients, SD volume of monocytes >23.2 was found in 9/12 patients (median 26.5, IQR: 23.3-28.9), mean volume of monocytes >180 was found in 9/12 patients (median 191, IQR: 187.5-196.5).

Conclusion: We showed that DxH800 Beckman Coulter® can detect the most changes in CBC caused by malaria. Data are generated during routine CBC analysis with no additional cost and possibility to create a flag to warn the operator for possible malaria infection. However, each positive result has to be confirmed by microscopic examination.

e-mail: sanja.kozic1@gmail.com

F02 (Usmeno izlaganje)**Kapilarna elektroforeza u rutinskom određivanju HbA_{1c} kod oboljelih od šećerne bolesti: kratka analitička verifikacija i preliminarni klinički rezultati**

Sandra Božičević, Vanja Radišić Biljak, Maja Krhač, Marijana Vučić Lovrenčić

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

Uvod: HbA_{1c} je ključna laboratorijska pretraga u kliničkom praćenju šećerne bolesti i procjeni rizika za razvoj mikro- i makrovaskularnih komplikacija. Nedavno je preporučena i dijagnostička primjena HbA_{1c}, osobito kod pretraživanja šećerne bolesti i predijabetesa u asimptomatskoj populaciji. Proširenje indikacija i ograničenja analitičkih metoda, prisutni i nakon uspostave globalne harmonizacije, predstavljaju trajan izazov u udovoljavanju rigoroznih uvjeta analitičke kvalitete za pouzdanu kliničku primjenu. Kapilarna elektroforeza, jedna od dviju referentnih metoda za HbA_{1c}, odnedavno dostupna i za rutinsku laboratorijsku primjenu, svakako omogućava kvalitativni pomak u analitici HbA_{1c}. Cilj ovog preliminarnog istraživanja je utvrditi analitičke značajke i moguće kliničke prednosti rezultata HbA_{1c} određenih kapilarnom elektroforezom u odnosu na imunokemijsku metodu kod kliničkog praćenja šećerne bolesti.

Materijali i metode: Analitička svojstva sustava za kapilarnu elektroforezu HbA_{1c} (Minicap Flex Piercing, Sebia, Francuska) verificirana su sukladno CLSI EP15-A2 protokolu. Usporedba rezultata HbA_{1c} određenih kapilarnom elektroforezom i akreditiranom imunokemijskom metodom na automatskom analizatoru (Tina-Quant HbA_{1c} Gen 2, Cobas Integra 400+, Roche Diagnostics, SAD) izvršena je na uzorcima oboljelih od šećerne bolesti (N=78) unutar klinički relevantnog raspona vrijednosti HbA_{1c}.

Rezultati: Ukupna analitička nepreciznost HbA_{1c} mjenog kapilarnom elektroforezom (koeficijent varijacije), iznosila je 1,02/1,62% (HbA_{1c} = 5,0%/30,6 mmol/mol), odnosno 1,24/1,55% (HbA_{1c} = 8,0%/64,3 mmol/mol). Bland-Altman analiza pokazala je prosječno odstupanje vrijednosti HbA_{1c} izmjerenih kapilarnom elektroforezom u odnosu na imunokemijsku metodu -0,24%/-2,8 mmol/mol (95%CI: -0,16 do

F02 (Oral presentation)**Capillary electrophoresis for routine determination of HbA_{1c} in patients with diabetes: Short analytical verification and preliminary clinical results**

Sandra Božičević, Vanja Radišić Biljak, Maja Krhač, Marijana Vučić Lovrenčić

Department of Medical Biochemistry and Laboratory Medicine, Merkur University Hospital, Zagreb, Croatia

Introduction: HbA_{1c} is a crucial laboratory test for clinical management of diabetes and the risk assessment for the development of micro- and macrovascular complications. Expanding indications and limitations of analytical methods represent a continuous challenge in meeting the rigorous requirements of analytical quality for reliable clinical use. Capillary electrophoresis, one of the two reference methods for HbA_{1c}, recently available for routine laboratory work, certainly enables a qualitative shift in analysis of HbA_{1c}. The aim of this preliminary study is to determine the analytical features and possible clinical benefits of HbA_{1c} results measured by capillary electrophoresis compared to immunoassays.

Materials and Methods: Analytical features of the system for measuring concentration of HbA_{1c} by capillary electrophoresis (MiniCap Flex Piercing, Sebia, France) are verified in accordance with CLSI EP15-A2 protocol. Comparison of the results of HbA_{1c} measured by capillary electrophoresis and accredited Immunoassay on the automatic analyzer (Tina-quant HbA1c Gen 2, Cobas Integra 400+, Roche Diagnostics, USA) was performed on samples of diabetic patients (N=78) within the clinically relevant concentration range of HbA_{1c}.

Results: The total imprecision of HbA_{1c} measured by capillary electrophoresis was 1.02/1.62% (HbA_{1c}=5.0%/30.6 mmol/mol) and 1.24/1.55% (HbA_{1c}=8.0%/64.3 mmol/mol). Bland-Altman analysis showed the average deviation of the measured values of HbA_{1c} by capillary electrophoresis in relation to immunoassays -0.24%/- 2.8 mmol/mol (95%CI: (-0.16)-(-0.32)%/(-3.8)-(-1.7) mmol/mol), with continued significant (P<0.001) increase in bias. Passing-Bablok analysis confirmed the systematic and proportional difference between the methods: HbA1c(%)_{capillary electrophoresis} = 0.8375 + 0.8750 × HbA

-0,32%/-3,8 do -1,7 mmol/mol), uz kontinuirano značajan ($P < 0,001$) porast odstupanja s porastom vrijednosti HbA_{1c} . Passing-Bablok analizom potvrđena je sistematska i proporcionalna razlika između metoda: $HbA_{1c} (\%)_{\text{kapilarna elektroforeza}} = 0,8375 + 0,8750 \times HbA_{1c} (\%)_{\text{imunokemija}}$; odsječak $A = 0,85$; nagib pravca $B = 0,87$; $HbA_{1c} (\text{mmol/mol})_{\text{kapilarna elektroforeza}} = 5,44 + 0,88 \times HbA_{1c} (\text{mmol/mol})_{\text{imunokemija}}$; odsječak $A = 5,44$; nagib pravca $B = 0,88$.

Zaključak: Kapilarna elektroforeza u cijelosti udovoljava rigoroznim kriterijima analitičke kvalitete za pouzdanu kliničku primjenu HbA_{1c} . Koncentracijska ovisnost razlike u vrijednostima HbA_{1c} vjerojatno je posljedica unaprijedne specifičnosti kapilarne elektroforeze u odnosu na imunokemiju. Eventualne kliničke implikacije uočene razlike valja rasvijetliti u budućim istraživanjima.

e-adresa: vanja.radisic@gmail.com

F03 (Usmeno izlaganje)

Model provjere funkcionalnosti autovalidacijskog algoritma

Vladimira Rimac¹, Krešimir Kuleš², Željka Vogrinc¹, Dunja Rogić¹

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

²IN2 d.o.o, Zagreb, Hrvatska

Uvod: Autovalidacija, sustav automatskog izdavanja rezultata, dio je laboratorijskog informacijskog sustava koji omogućuje validaciju rezultata kroz točno definirana pravila, odnosno algoritme. Kao pravilo mogu se postaviti granice linearnosti analizatora, granice ponavljanja rezultata određenog testa (*engl. re-run*), vrijednosti serumskih indeksa, kritične vrijednosti te provjera rezultata testa s prethodnim rezultatima (*engl. delta check*). Kod definiranja pravila potrebno je obratiti pozornost na područje laboratorijskog rada i populaciju pacijenata u ustanovi gdje će se autovalidacija primjenjivati. Ciljevi ovog rada bili su ispitati vjerodostojnost postavljenih pravila u algoritmu prema kojem se provodi autovalidacija, te utvrditi postotak autovalidiranih uzoraka u odnosu na ukupan broj uzoraka uključenih u validaciju, kao i koja pravila u najvećoj mjeri zaustavljaju autovalidaciju.

$HbA_{1c} (\%)_{\text{immunochemistry}}$; intercept $A = 0,85$; slope $B = 0,87$; $HbA_{1c} (\text{mmol/mol})_{\text{capillary electrophoresis}} = 5,44 + 0,88 \times HbA_{1c} (\text{mmol/mol})_{\text{immunochemistry}}$; intercept $A = 5,44$; slope $B = 0,88$.

Conclusion: Capillary electrophoresis meets the rigorous criteria of the analytical quality for reliable clinical use of HbA_{1c} . The concentration dependence of the observed difference in the values of HbA_{1c} is probably a consequence of enhanced specificity of capillary electrophoresis compared to immunochemistry methods. Potential clinical implications of the observed differences need to be brought in future research.

e-mail: vanja.radisic@gmail.com

F03 (Oral presentation)

Evaluation of rules in autovalidation algorithm

Vladimira Rimac¹, Krešimir Kuleš², Željka Vogrinc¹, Dunja Rogić¹

¹Department of Laboratory Diagnostics, University Hospital Centre Zagreb, Zagreb, Croatia

²IN2 d.o.o, Zagreb, Croatia

Introduction: Autovalidation is a part of the laboratory information system whereby laboratory results are released without manual human intervention through defined rules and algorithms. Autovalidation rules may include: analytical measurement range, interference indices (hemolysis, icterus, lipemia), critical values or delta checks. Rules must be set for laboratory testing and patient population for which autovalidation will be applied. The aims of the study were to examine the credibility of the rules in the algorithm for autovalidation and determine the percentage of samples that were autovalidated in comparison to the total number of samples included in validation, as well as rules that stop autovalidation.

Materials and Methods: The validation results included 9805 samples of biochemical tests analyzed

Materijali i metode: U validaciju su bili uključeni rezultati općih biokemijskih pretraga 9805 uzoraka koji su analizirani u Kliničkom zavodu za laboratorijsku dijagnostiku Kliničkog bolničkog centra Zagreb, u razdoblju od svibnja do srpnja 2014.godine. Validacija je provedena na način da je prije pokretanja sustava autovalidacije rezultate pregledao medicinski biokemičar te bilježio uzorke koji ne bi trebali zadovoljiti pravila postavljena u algoritmu. Statistička obrada podataka napravljena je pomoću softvera MedCalc (verzija 9.3.2.0).

Rezultati: 78,3% (7677) uzoraka uključenih u validaciju bilo je autovalidirano. Najveći postotak uzoraka (54,9%) nije bio autovalidiran zbog postavljenih pravila za granice ponavljanja određenog testa, dok je najmanji postotak nevalidiranih uzoraka zabilježen kod pravila indeksa ikterije (0,6%). Podudarnost postupka autovalidacije i osobe koja je provodila validaciju bila je 99,5%, odnosno neslaganje je zapaženo samo na 0,5% uzoraka (38). Analizom podataka X²-testom utvrđeno je da nema statistički značajne razlike (P=0,523) u broju uzoraka koji su bili autovalidirani (7677) u odnosu na one koje je validirao medicinski biokemičar (7639).

Zaključak: Analizom rezultata dobiveno je da su postavljena pravila u algoritmu za opće biokemijske pretrage vjerodostojna, te da se sustav autovalidacije može implementirati u svakodnevni laboratorijski rad u KZLD-u.

e-adresa: kutnjakvl@gmail.com

in the Department of Laboratory Diagnostics, University Hospital Centre Zagreb from May to July 2014. Validation was performed in such a way that, before starting the system of autovalidation, the results were reviewed by a medical biochemist who recorded samples that should meet the rules set in the algorithm. Statistical analysis was made using the software MedCalc (version 9.3.2.0).

Results: 78.3% (7677) of the samples included in validation were autovalidated. The highest percentage of samples (54.9%) was not autovalidated due to set rules for analytical measurement ranges, while the lowest percentage of non-validated samples was recorded in the rules for interference indices for icterus (0.6%). The correspondence of autovalidation and the person who carried it out was 99.5%, i.e. the mismatch is observed only in 0.5% of samples (38). An analysis of X²-test data showed no statistically significant difference (P=0.523) in the number of samples that were autovalidated (7677) in relation to those validated by medical biochemist (7639).

Conclusion: The analysis of results showed that set rules in the algorithm are credible, and that system autovalidation can be implemented in routine laboratory use.

e-mail: kutnjakvl@gmail.com

F04

OptiScanner 5000: povremeno praćenje glukoze u bolesnika sa sepsom

Alessandra Barassi¹, Michele Umbrello², Valentina Salice³, Paolo Spanu², Paolo Formenti², Luca Massaccesi⁴, Giancarlo Goi⁴, Clara Anna Linda Damele⁵, Angela Leone⁵, Rossana Stefanelli⁵, Gaetano Iapichino^{2,3}, Gian Vico Melzi d'Eril¹

¹Dipartimento di Scienze della Salute, Università degli Studi di Milano, Milano, Italy

²Unità Operativa di Anestesia e Rianimazione, Azienda Ospedaliera San Paolo - Polo Universitario, Milano, Italy

³Dipartimento di Fisiopatologia Medico-Chirurgica e dei Trapianti, Università degli Studi di Milano, Milano, Italy

F04

OptiScanner 5000: an intermittent glucose monitoring in septic patients

Alessandra Barassi¹, Michele Umbrello², Valentina Salice³, Paolo Spanu², Paolo Formenti², Luca Massaccesi⁴, Giancarlo Goi⁴, Clara Anna Linda Damele⁵, Angela Leone⁵, Rossana Stefanelli⁵, Gaetano Iapichino^{2,3}, Gian Vico Melzi d'Eril¹

¹Dipartimento di Scienze della Salute, Università degli Studi di Milano, Milano, Italy

²Unità Operativa di Anestesia e Rianimazione, Azienda Ospedaliera San Paolo - Polo Universitario, Milano, Italy

³Dipartimento di Fisiopatologia Medico-Chirurgica e dei Trapianti, Università degli Studi di Milano, Milano, Italy

⁴Dipartimento di Scienze Biomediche, Chirurgiche ed Odontoiatriche, Università degli Studi di Milano, Milano, Italy

⁵Laboratorio di Analisi, Ospedale San Paolo, Milano, Italy

⁴Dipartimento di Scienze Biomediche, Chirurgiche ed Odontoiatriche, Università degli Studi di Milano, Milano, Italy

⁵Laboratorio di Analisi, Ospedale San Paolo, Milano, Italy

Uvod: Još uvijek se raspravlja o optimalnoj razini i načinu kontrole glukoze u kritičnih bolesnika. Protokolizirani pristup i upotreba gotovo stalnih tehnologija se preporučuju za praćenje hiperglikemije, hipoglikemije i glikemijskih promjena. Nedavno smo predložili protokol temeljen na patofiziologiji glukoze koji uzima u obzir koncentraciju glukoze u bolesnika, unos ugljikohidrata i inzulinsku rezistenciju. Cilj ovog istraživanja bio je procijeniti uspješnost našeg protokola na automatiziranom uređaju za intervalno praćenje koncentracije glukoze u plazmi (OptiScanner™ 5000).

Materijali i metode: OptiScanner™ je upotrebljen u 6 bolesnika sa sepsom, omogućuje mjerenje glukoze svakih 15 minuta, a priključen je bočno na već ugrađeni centralni venski kateter. Ciljna koncentracija glukoze bila je 4,4-8,3 mmol/L. Zabilježena je infuzija inzulinom i unos prehrane u kcal.

Rezultati: U studiji je praćeno 6 bolesnika sa sepsom kroz 319 sati (1277 mjerenja); 58 (45-65) sati za svakog bolesnika (mjerenja/bolesnik: 231 (172-265)). Ciljna koncentracija glukoze u krvi bila je postignuta u 93 (90-98)% ispitivanog vremena. Srednja vrijednost glukoze u plazmi bila je $7,0 \pm 0,6$ mmol/L. Zabilježene su samo 3 epizode hipoglikemije (4,3; 4,3; 3,8 mmol/L). Varijabilnost glukoze bila je ograničena: koeficijent varijacije za glukozu u plazmi bio je $11,7 \pm 4,0\%$, a standardna devijacija za glukozu u plazmi $0,8 \pm 0,3$ mmol/L.

Zaključak: Lokalnim protokolom kontrole glukoze postignuta je zadovoljavajuća kontrola glukoze u bolesnika sa sepsom uz visoki stupanj sigurnosti. Automatizirano povremeno praćenje glukoze u plazmi činilo se korisnim za procjenu učinkovitosti protokola.

e-adresa: alessandra.barassi@unimi.it

Introduction: The optimal level and modality of glucose control in critically ill patients is still debated. A protocolized approach and the use of nearly-continuous technologies are recommended to manage hyperglycemia, hypoglycemia and glycemic variability. We recently proposed a patho-physiology-based glucose control protocol which takes into account patient glucose/carbohydrate intake and insulin resistance. Aim of the present investigation was to assess the performance of our protocol with an automated intermittent plasma glucose monitoring device (OptiScanner™ 5000).

Materials and Methods: OptiScanner™ was used in 6 septic patients, providing glucose measurement every 15 minutes from a side-port of an indwelling central venous catheter. Target level of glucose was 4.4-8.3 mmol/L. Insulin infusion and kcal with nutritional support were also recorded.

Results: Six septic patients were studied for 319 h (1277 measurements); 58 (45-65) hours for each patient (measurements/patient: 231 (172-265)). Blood glucose was at target for 93 (90-98)% of study time. Mean plasma glucose was 7.0 ± 0.6 mmol/L. Only 3 hypoglycemic episodes (4.3, 4.3, 3.8 mmol/L) were recorded. Glucose variability was limited: plasma glucose coefficient of variation was $11.7 \pm 4.0\%$ and plasma glucose standard deviation was 0.8 ± 0.3 mmol/L.

Conclusion: The local glucose control protocol achieved satisfactory glucose control in septic patients along with a high degree of safety. Automated intermittent plasma glucose monitoring seemed useful to assess the performance of the protocol.

e-mail: alessandra.barassi@unimi.it

G – Akreditacija, organizacija, kvaliteta i upravljanje u laboratoriju

G01

Prikaz indikatora kvalitete u kliničkoj laboratorijskoj hematologiji

Dragica Ferenc Ružić, Biserka Getaldić, Sandra Margetić, Ivana Vuga, Nada Vrkić

Odjel za laboratorijsku hematologiju i koagulaciju, Klinički zavod za kemiju, Klinički bolnički centar Sestre milosrdnice, Zagreb, Hrvatska

Uvod: Definiranje i kontinuirano praćenje indikatora kvalitete obaveza je laboratorija akreditiranih po normi HRN EN 15189. Ovi mjerljivi pokazatelji trebaju obuhvatiti faze rada u laboratoriju u kojima se prema specifičnosti dijagnostičkog područja za samoprocjenu kvalitete odaberu nesukladnosti koje se prebrojavaju i ocjenjuju u vremenskim intervalima temeljem kojih se može provoditi proces poboljšanja rada. Cilj je bio učiniti samoprocjenu kvalitete rada u hematološkom laboratoriju koji ima integriranu organizaciju rada hitnih i redovnih uzoraka kroz praćenje tri ključne nesukladnosti u periodu od godine dana: 1. broj zgrušanih uzoraka, 2. broj ponavljanja mjerenja radi analitičke greške analizatora, 3. broj hitnih uzoraka KKS koje su imali prekoračenje TAT-a.

Materijal i metode: Na Odjelu za laboratorijsku hematologiju i koagulaciju bilježe se nesukladnosti prema predanalitičkoj, analitičkoj i poslijeanalitičkoj fazi radnog procesa. Pretrage KKS učinjene su na hematološkim analizatorima DxH (Beckman Coulter) i Cell-Dyn Sapphire (Abbott). Podatke o izabranim indikatorima radnog procesa dobili smo pretraživanjem baze nesukladnosti u programu Microsoft Accessu.

Rezultati: U vremenskom periodu od godinu dana (1.1.2014.- 31.12.2014.) izdano je 124602 nalaza KKS. Prema evidentiranim nesukladnostima zatraženo je 918 ponavljanja uzorkovanja (0,7%), od kojih je glavnina 770 (0,6%) bila zgrušani uzorci. Mjerenje je ponovljeno u 1091 uzorku (0,9%) s najučestalijom kategorijom provjere DKS-509/1091 (46%). Od ukupnog broja izdanih nalaza KKS, hitnih zahtjeva bilo je 94974 (76,2%), od kojih je na mjesečnoj razini prekoračilo TAT 685 uzoraka (0,7%), dok je srednja vrijednost TAT-a na godišnjoj razini za KKS bila 17,8 minuta.

G – Accreditation, organization, quality and laboratory management

G01

Quality indicators in clinical laboratory hematology

Dragica Ferenc Ružić, Biserka Getaldić, Sandra Margetić, Ivana Vuga, Nada Vrkić

Department of Laboratory Hematology and Coagulation, University Department of Chemistry, University Hospital Centre Sestre milosrdnice, Zagreb, Croatia

Introduction: Defining and continuous monitoring of quality indicators is obligatory for laboratories accredited according to the HRN EN 15189. Measurement of indicators should include different phases of laboratory work in which, according to the specificity of diagnostic area, selected nonconformities are appropriate for quality self-assessment, when counted and evaluated enable process improvement. The aim was self-assessment of the quality in the hematology laboratory, with integrated organization of emergency and routine samples, by monitoring three key nonconformities within one year: 1. number of clotted samples, 2. number of repeated measurements due to analytical errors, 3. number of emergency CBC samples, which exceeded TAT.

Materials and Methods: Nonconformities of pre-analytical, analytical and post-analytical phase were recorded by the Department of Laboratory Hematology and Coagulation. CBC was measured on hematology analyzers DxH (Beckman Coulter) and Cell-Dyn Sapphire (Abbott). Data on the selected indicators of the working process were obtained by exploring a nonconformities database in Microsoft Access.

Results: In one year period (1.1.2014.-31.12.2014.) 124602 CBC reports were issued. Records show that 918 repeated sampling were requested (0.7%), of which the majority was clotted samples 770 (0.6%). Measurement was repeated for 1091 samples (0.9%) out of which 509 (46%) for checking differential leucocyte count. 94974 (76.2%) of the total number of issued CBC reports were emergency requirements, of which 685 samples (0.7%) monthly exceeded TAT, while the annual average TAT value for CBC was 17.8 minutes.

Zaključak: Naši rezultati prema indikatorima kvalitete pokazuju vrlo dobar udjel uzoraka koji su bili analitički prihvatljivi s obzirom da je od ukupno analiziranih bilo 15654 kapilarnih uzoraka. Inicijalna analiza na hematološkim analizatorima ima prihvatljive kriterije efikasnosti, kao i prosječno vrijeme za izradu hitnih nalaza KKS. Poboljšanje će se temeljiti na analizi dinamike ovih indikatora na mjesečnoj razini te će se time ubrzati rješavanje evidentiranih pogrešaka.

e-adresa: dfruzic@gmail.com

G02 (Usmeno izlaganje)

Identifikacija laboratorijskih procesa s utjecajem na vremensko opterećenje laboratorijskog rada

Vesna Šupak Smolčić^{1,2}, Dragana Antončić¹, Ivana Vladilo¹, Eliza Bašić¹, Diana Jamaković¹, Dubravka Lenac¹, Jasna Marčelja¹, Snježana Salopek¹, Elizabeta Fišić¹, Lidija Bilić-Zulle^{1,2}

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

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

Uvod: Vrijeme potrebno za izdavanje nalaza je jedan od temeljnih indikatora kvalitete laboratorijskog rada. Skraćivanje vremena izdavanja nalaza uz unaprjeđenje kvalitete predstavlja izazov u složenim laboratorijskim procesima. Cilj rada je identificirati procese s najvećim utjecajem na vrijeme od zaprimanja uzorka do završetka analize.

Materijali i metode: U razdoblju od siječnja do ožujka 2015. u KZLD-u KBC-a Rijeka ručno su bilježeni podaci o vremenima za pojedine faze laboratorijskog procesa za 1432 uzorka. Uzorci su podijeljeni u 5 razdoblja prema vremenu prijema: R1 (7:00-8:00h), R2 (8:00-9:00h), R3 (9:00-10:00h), R4 (10:00-11:00h), R5 (11:00-12:00h). Za sve uzorke zabilježeno je vrijeme (minute) od prijema do početka centrifugiranja (D1), od centrifugiranja do ručnog barkodiranja (D2), od barkodiranja do postavljanja na analizator (D3), vrijeme na analizatoru (D4), vrijeme od završetka analize do pohrane uzorka (D5) te ukupno trajanje procesa

Conclusion: According to the quality indicators, our results show a good proportion of acceptable samples considering that 15654 of analyzed samples were capillary samples. Initial analyses of the hematology analyzers have eligible criteria for efficiency and average time for issuing CBC emergency report. The improvement will be established on the analysis of the monthly dynamics of these indicators and will speed up the management of recorded errors.

e-mail: dfruzic@gmail.com

G02 (Oral presentation)

Identification of laboratory processes with major influence on laboratory turnaround time

Vesna Šupak Smolčić^{1,2}, Dragana Antončić¹, Ivana Vladilo¹, Eliza Bašić¹, Diana Jamaković¹, Dubravka Lenac¹, Jasna Marčelja¹, Snježana Salopek¹, Elizabeta Fišić¹, Lidija Bilić-Zulle^{1,2}

¹Clinical Department of Laboratory Diagnostics, Clinical Hospital Centre Rijeka, Rijeka, Croatia

²Department of Medical Informatics, Rijeka University School of Medicine, Rijeka, Croatia

Introduction: Time reduction for issuing laboratory results accompanied with quality improvement presents a major challenge in laboratory work. We aimed to identify processes with major influence on turnaround time (TAT).

Materials and Methods: From January till March 2015, we manually recorded duration of several processes in laboratory routine work for 1432 samples arrived in the Department of laboratory diagnostics, CHC Rijeka. Sample reception was divided in 5 intervals: R1 (7:00-8:00h), R2 (8:00-9:00h), R3 (9:00-10:00h), R4 (10:00-11:00h), R5 (11:00-12:00h). Duration (minutes) of the following processes was recorded: from sample reception to centrifugation (D1), from centrifugation to manual barcoding (D2), from barcoding to placing the sample into analyser (D3), time on analyser (D4), from the end of analysis to archiving (D5) and overall process duration (TAT) (D6). Difference of process duration regarding differ-

(D6). Razlike u trajanju procesa s obzirom na razdoblja ispitane su Kruskal-Wallis testom (razina značajnosti $P < 0,05$).

Rezultati: Najveći broj uzoraka zaprima se u razdoblju R3 (25%). Prosječno trajanje procesa (minute) prikazano medijanom i interkvartilnim rasponom: D1=25(20-30); D2=15(15-20); D3=30(15-50); D4=20(15-24); D5=12(10-20); D6=115(100-135). Razdoblja prijema od R1 do R5 imaju podjednako trajanje procesa D1 ($P=0,122$). Proces D2 je najkraći, 15(10-15), za uzorke primljene u razdoblju R4 ($P=0,004$). Trajanje procesa D3 i D4 je značajno dulje za R1 (D3=40(20-59); D4=20(14-25)) i R2 (D3=30(15-50); D4=20(15-24)) u odnosu na ostala razdoblja (oba testiranja $P < 0,001$). Proces D5 je dulji u R1, R2 i R3 od R4 i R5 ($P < 0,001$). D6 je najdulji u R1, 125(105-142), zatim u R2, 115(95-130), dok je u ostalim podjednak ($P < 0,001$).

Zaključak: Brojem uzoraka najopterećeniji je prijem u razdoblju od 9:00-10:00 sati. Ipak, najsporije se obrađuju uzorci pristigli od 7:00-9:00 sati. Kritične točke u obradi su ručno barkodiranje te vrijeme do postavljanja na analizator. Za smanjivanje TAT-a u tom razdoblju potrebna je optimizacija procesa s obzirom na broj osoblja ili automatizacija.

e-adresa: vesnasupak@gmail.com

ent time of receipt were tested using Kruskal-Wallis test (level of significance $P < 0.05$).

Results: The majority of samples were received in R3 (25%). Average duration (minutes) of each process (median, interquartile range) was as follows: D1=25(20-30); D2=15(15-20); D3=30(15-50); D4=20(15-24); D5=12(10-20); D6=115(100-135). Sample reception (D1) lasts equally for intervals R1 to R5 ($P=0,122$). Process D2 is the fastest, 15(10-15), for samples received in R4 ($P=0,004$). Duration of D3 and D4 is significantly longer for samples received during R1 (D3=40(20-59); D4=20(14-25)) and R2 (D3=30(15-50); D4=20(15-24)) when compared with other intervals (both $P < 0.001$). Process D5 is longer for R1, R2 and R3 in comparison to R4 and R5 ($P < 0.001$). TAT (D6) is the longest for samples received in R1, 125(105-142), following R2, 115(95-130), while in other intervals remains the same ($P < 0.001$).

Conclusion: From 9:00-10:00 am laboratory sample reception is burdened the most. Samples received from 7:00-9:00 am are processed the slowest. Critical points are manual barcoding and time for placing the sample in the analyser. Personnel management optimization or automatization is needed for TAT reduction.

e-mail: vesnasupak@gmail.com

G03

Naknadni zahtjevi za laboratorijskim testovima – predanalitički indikator kvalitete

Vesna Šupak Smolčić^{1,2}, Dragana Antončić¹, Lidija Bilić-Zulle^{1,2}

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

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

Uvod: Indikatori kvalitete objektivni su pokazatelji kvalitete procesa. Jedan od predanalitičkih indikatora kvalitete jest udio laboratorijskih testova koji su potrebni, ali nisu primarno zatraženi, tj. postotak naknadno naručenih zahtjeva za dodatnim testovima u uzorcima koji su već obrađeni ili uzeti u obradu. Cilj

G03

Number of requests required but not registered (missed tests) – preanalytical quality indicator

Vesna Šupak Smolčić^{1,2}, Dragana Antončić¹, Lidija Bilić-Zulle^{1,2}

¹Clinical Department of Laboratory Diagnostics, Clinical Hospital Centre Rijeka, Rijeka, Croatia

²Department of Medical Informatics, Rijeka University School of Medicine, Rijeka, Croatia

Introduction: Quality indicators are objective way for accessing the quality of laboratory work. One of the preanalytical quality indicators is the percentage of tests that are required but not primarily requested i.e. requests for additional analysis of the samples already received and analyzed in the laboratory. We

je bio uspostaviti ovaj indikator kvalitete te utvrditi koji odjeli najčešće naknadno traže dodatne testove.

Materijali i metode: Podatci o naknadnim zahtjevima prikupljeni su u Kliničkom zavodu za laboratorijsku dijagnostiku (lokalitet Rijeka) KBC-a Rijeka tijekom 2014. godine. Analiza je učinjena s obzirom na Kliničke zavode i Klinike iz kojih su dospjeli naknadni zahtjevi. Indikator kvalitete definiran je kao postotak naknadno traženih zahtjeva za već obrađene uzorke od ukupnog broja zahtjeva za laboratorijskim pretragama za pojedini Klinički zavod ili Kliniku u 2014. godini. Sigma vrijednost izračunata korištenjem mrežnog kalkulatora (<https://www.westgard.com/six-sigma-calculators.htm>), a vrijednost sigma >3 određena je kao granica prihvatljivosti.

Rezultati: U 2014. godini bilo je ukupno 107.016 zahtjeva za laboratorijskim pretragama iz Kliničkih zavoda i Klinika KBC-a Rijeka, lokaliteta Rijeka. Ukupan broj naknadno naručenih zahtjeva bio je 1.356 (1,3%) što odgovara sigma vrijednosti od 3,8. Najčešće naknadni zahtjevi dolaze iz: Centra za hitnu medicinu (1.113/16.187; 6,9%; sigma 3,0); Klinika za infektivne bolesti (31/3.451; 0,9%; 3,9), Zavod za gastroenterologiju (62/11.618; 0,5%; sigma 4,1), Klinika za psihijatriju (5/958; 0,5%; sigma 4,1), Klinika za kirurgiju (14/4.882; 0,3%; sigma 4,3), Zavod za hematologiju (41/12.859; 0,3%; sigma 4,3), Klinika za ginekologiju (35/11.752; 0,3%; sigma 4,3). Klinike i zavode koji imaju vrijednost sigma >4,5 nismo iskazali.

Zaključak: Usprkos naoko niskom postotku naknadno zatraženih zahtjeva za laboratorijskim pretragama, vrijednosti sigma 3,0 do 4,5 za sedam klinika i zavoda ostavlja značajan prostor za poboljšanje.

e-adresa: vesnasupak@gmail.com

aimed to establish this quality indicator and to identify departments which frequently make additional requests.

Materials and Methods: Added test requests were recorded during 2014 in the Department of laboratory diagnostics (location Rijeka), Clinical Hospital Centre Rijeka. Data was analyzed according to Clinical departments and Clinics which requested additional analysis. Quality indicator was defined as percentage of requests for additional analysis of the samples already analyzed out of total number of requests for each Clinical department and Clinic in 2014. Sigma value was calculated using web calculator (<https://www.westgard.com/six-sigma-calculators.htm>). Sigma >3 was considered as acceptable.

Results: In 2014 we received a total of 107016 requests for laboratory analysis from all Clinical departments and Clinics in CHC Rijeka, location Rijeka. The total number of requests for additional analysis was 1356 (1.3%) corresponding to a sigma value of 3.8. Departments that make requests for additional testing most frequently are: Emergency department (1113/16187, 6.9%, sigma 3.0); Clinic for Infectious Diseases (31/3451, 0.9%, 3.9), Department of Gastroenterology (62/11618, 0.5%, sigma 4.1), Clinic for Psychiatry (5/958, 0.5%, sigma 4.1), Clinic for Surgery (14/4882, 0.3%, sigma 4.3), Department of Hematology (41/12859, 0.3%, sigma 4.3), Clinic for Gynecology (35/11752, 0.3%, sigma 4.3). Clinical departments and Clinics with sigma >4.5 are not shown.

Conclusion: Despite the seemingly low percentage of additional requests for laboratory analysis, sigma values from 3.0 to 4.5 for the seven Clinical departments and Clinics leaves significant room for improvement.

e-mail: vesnasupak@gmail.com

G04

Verifikacija imunokemijske metode za određivanje anti-Mullerovog hormona

Danijela Županić, Renat Mujagić, Lorena Honović

Odjel za laboratorijsku dijagnostiku, Opća bolnica Pula, Pula, Hrvatska

Uvod: Anti-Mullerov hormon (AMH) nastaje u jajnicima i testisima. Zadatak mu je kod žena stvaranje rezerve jajnih stanica i regulacija prijelaza folikula u zrelu fazu. Kod muškaraca AMH je odgovoran za normalan razvoj reproduktivnog organa. Cilj ovog rada je ispitati prihvatljivost reagensa AMH (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Njemačka) za primjenu na imunokemijskom analizatoru Cobas e411 kako bi osigurali pouzdane rezultate laboratorijske pretrage. Verifikaciju imunokemijske metode učinili smo primjenom CLSI/NCCLS postupka EP 15-A2.

Materijali i metode: Procijenili smo sljedeće parametre: preciznost (ponovljivost, međupreciznost i ukupna laboratorijska preciznost) koju smo proveli u dvije koncentracijske razine u triplikatu tijekom pet dana. Koristili smo kontrolne uzorke tvrtke Roche (PC-AMH 1 i PC-AMH 2) te je izrazili kao standardno odstupanje (s) i koeficijent varijacije (KV). Procijenili smo i sustavnu pogrešku (odstupanje od očekivanih vrijednosti). Proveli smo ju u dvije koncentracijske razine u duplikatu tijekom pet dana također korištenjem kontrolnih uzoraka tvrtke Roche (PC-AMH 1 i PC-AMH 2).

Rezultati: Kod procjene preciznosti dobili smo sljedeće rezultate: Za razinu 1 kontrolnog uzorka (deklarirana srednja vrijednost iznosi 7,07 pmol/L) dobivena je srednja vrijednost 7,3 pmol/L te vrijednosti za ponovljivost ($S_r=0,07$, $KV\%=1,0\%$), međupreciznost ($S_b=0,08$; $KV\%=1,1\%$) i ukupnu laboratorijsku preciznost ($SI=0,1$; $KV\%=1,4\%$). Za razinu 2 kontrolnog uzorka (deklarirana srednja vrijednost iznosi 38,6 pmol/L) dobivena je srednja vrijednost 39,5 pmol/L te vrijednosti za ponovljivost ($S_r=0,7$; $KV\%=1,8\%$), međupreciznost ($S_b=0,53$; $KV\%=1,3\%$) i ukupnu laboratorijsku preciznost ($SI=0,78$; $KV\%=2,0\%$). Dobivena sustavna pogreška za razinu 1 kontrolnog uzorka iznosi 0,184 (2,6%), a za razinu 2 0,559 (1,4%).

Zaključak: Dobiveni niski koeficijenti varijacije ispitivanjem preciznosti (ponovljivost, međupreciznost i ukupna laboratorijska preciznost) te minimalno odstupanje od očekivanih vrijednosti kontrolnih referentnih materijala dokazuju da je reagens AMH tvrtke Roche prihvatljiv i preporučljiv za primjenu na imunokemijskom analizatoru Cobas e411 tvrtke Roche.

e-adresa: danijela.zupanic@pu.t-com.hr

Biochemia Medica 2015;25(Suppl 1):S1-S158

G04

Verification of immunoassay for determination of anti-Mullerian hormone

Danijela Županić, Renat Mujagić, Lorena Honović

Department of Laboratory Diagnostics, General Hospital Pula, Pula, Croatia

Introduction: Anti-Mullerian hormone (AMH) is produced by the ovaries and testes. Its role is to make a reserve of oocytes and regulate the transition of follicles into a mature phase in women and the normal development of the reproductive organs in men. The aim of this paper is to investigate the acceptability of AMH reagent (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany) for the application in immunochemical analyzer Cobas e411 to ensure reliable results of the laboratory test. Verification of immunoassay was performed using the CLSI/NCCLS procedure EP 15-A2.

Materials and Methods: We evaluated the following parameters: Precision in which we determined repeatability, interprecision and overall laboratory precision and systematic error (deviation from the expected values). We used Roche control samples (PC-AMH 1 and PC-AMH 2).

Results: In the evaluation of precision the following results were obtained: For control sample level 1 (declared mean value is 7.07 pmol/L), mean value of 7.3 pmol/L, value for repeatability ($S_r=0.07$, $CV\%=1.0\%$), interprecision ($S_b=0.08$, $CV\%=1.1\%$) and overall laboratory precision ($SI=0.1$, $CV\%=1.4\%$). For control sample level 2 (declared mean value is 38.6 pmol/L), mean value of 39.5 pmol/L, value for repeatability ($S_r=0.7$, $CV\%=1.8\%$), interprecision ($S_b=0.53$, $CV\%=1.3\%$) and overall laboratory precision ($SI=0.78$, $CV\%=2.0\%$). The resulting systematic error for control sample level 1 is 0.184 (2.6%), while for level 2 it is 0.559 (1.4%).

Conclusion: Based on the results of this study, we can conclude that tested Roche reagent AMH is acceptable and we recommend its use in immunochemical analyzer Cobas e411.

e-mail: danijela.zupanic@pu.t-com.hr

G05

Molekularna dijagnostika virusa – rezultati vanjske kontrole od 2010. - 2014.

Jasna Bingulac-Popović, Vesna Đogić, Ivana Babić, Tomislav Vuk, Dorotea Šarlija, Nina Juraković- Lončar, Melita Balijsa, Irena Jukić

Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu, Zagreb, Hrvatska

Uvod: Vanjska procjena kvalitete rada primjenjuje se u Odjelu za molekularnu dijagnostiku (OMD) HZTM redovito od 1997. za molekularnu dijagnostiku virusa hepatitisa B i C, te HIV-1. Cilj rada je prikaz i analiza rezultata vanjske kontrole u razdoblju od 2010-2014.

Materijali i metode: OMD sudjeluje u Quality Control for Molecular Diagnostics (QCMD, Škotska) kontroli titra virusa HCV, HBV, HIV-1 te genotipizaciji HBV i HCV. Godišnje se testira po 4 panela uzoraka za kontrolu titra i po 1 panel za genotipizaciju. Virusni titar određuje se RT-PCR komercijalnim kitovima na uređaju COBAS AmpliPrepTaqMan docking stanica (Roche Diagnostics, SAD), a genotipizacija pomoću PCR-SSOP na uređaju AutoLIPa (Siemens, Njemačka). U radu su korištena individualna i skupna QCMD izvješća.

Rezultati: Kriteriji prihvaćanja su $\pm 0,5 \log_{10}$ (95%CI) odnosno do 2SD odstupanja za kvantitativne molekularne testove, dok je za kvalitativne testove kriterij 90-100% istinitost rezultata. QCMD izračunava panel score kao indikator (ne)zadovoljavajućeg testiranja u odnosu na ciljnu vrijednost. Score 0 označava visoko zadovoljavajući a 3 je visoko nezadovoljavajući rezultat. Za određivanje HCV genotipa u 5 godina panel score iznosi 0 uz 100% točno testiranje, za HBV-DNA i HIV-1 RNA panel score se kreće od 0-1. U testiranju HCV-RNA 2011. jedan pozitivan uzorak bio je negativan (score 2); 2012. za 1 uzorak se log titra razlikovao za 1,2 (dozvoljeno je 0,5 log; score 1); 2013. je u testiranju 1 od panela imao score 2 (2SD), a 2014. za istu metodu panel score bio je 0. Kod određivanja HBV genotipa, u jednom slučaju uzorak je kontaminiran u seriji od 8 uzoraka a u drugom HBV genotip H je krivo interpretiran kao miješani D+F (score 1).

Zaključak: Svi djelatnici OMD zajednički su analizirali rezultate vanjskih kontrola, diskutirali o odstupanju i mogućim kritičnim točkama procesa, odlučili o mjerama poboljšanja i dekontaminacije što je rezultiralo izvrsnim rezultatima vanjske kontrole molekularne dijagnostike virusa.

e-adresa: jasna.bingulac-popovic@hztm.hr

G05

Molecular viral diagnostics - external control results 2010 - 2014

Jasna Bingulac-Popović, Vesna Đogić, Ivana Babić, Tomislav Vuk, Dorotea Šarlija, Nina Juraković- Lončar, Melita Balijsa, Irena Jukić

Croatian Institute of Transfusion Medicine, Zagreb, Croatia

Introduction: External Quality Assessment were applied in the Molecular Diagnostics department (MDD) of CITM regularly since 1997 for molecular diagnostics of viral hepatitis B and C, and HIV-1. The aim is to present the results of external control from 2010-2014.

Materials and Methods: MDD participates in the Quality Control for Molecular Diagnostics (QCMD, Scotland) for viral loads of HCV, HBV, HIV-1 and HBV, HCV genotypes. Annually were tested 4 panel samples for viral load and 1 for genotyping. The viral load is determined by RT-PCR commercial kits on the COBAS AmpliPrepTaqMan docking station (Roche Diagnostics, USA) and genotyping using PCR-SSOP on the AutoLIPa (Siemens, Germany). In the study were used QCMD individual and group reports.

Results: Acceptance criteria are $\pm 0.5 \log_{10}$ (95% CI) or to 2SD for quantitative results, while for qualitative criteria is 90-100% results accuracy. QCMD calculates panel scores as an indicator of (un)satisfactory results compared to the target value. Score 0 signs highly satisfactory and 3 highly unsatisfactory result. For HCV genotype determination in five years the panel score was 0 with 100% accurate testing, for HBV and HIV-1 load panel scores ranged from 0-1. For HCV load tests one positive sample was negative (score 2) 2011; for 1 sample log titre differed by 1.2 (0.5 log is allowed; score 1) 2012; one panel had a score 2 (2SD) 2013, and for the same method panel score was 0 2014. For HBV genotype twice deviations has occurred; the sample is contaminated in a series of 8 samples; and HBV genotype H is wrong interpreted as mixed D+F (panel score 1).

Conclusion: All MDD employees analyze the results of EQA, discuss the possible critical points of the process, and improve decontaminating measures which resulted in excellent results of external quality assessment of molecular viral diagnostics.

e-mail: jasna.bingulac-popovic@hztm.hr

G06

Usporedba imunokemijskih metoda za određivanje TSH, FT4 i FT3

Jelena Omazić¹, Sanja Mandić^{1,2}, Vesna Horvat^{1,2}, Vatroslav Šerić^{1,2}

¹Odjel za kliničku laboratorijsku dijagnostiku, Klinički bolnički centar Osijek, Osijek, Hrvatska

²Medicinski fakultet Osijek, Sveučilište J.J. Strossmayera u Osijeku, Osijek, Hrvatska

Uvod: Određivanje tireotropina (TSH), tiroksina (FT4) i trijodtironina (FT3) jedan je od češćih zahtjeva u svakodnevnoj kliničkoj praksi. U analizi se koriste različite imunokemijske metode. Cilj je istraživanja bio ispitati usporedivost rezultata dobivenih na analizatorima Unicel Dxl600 (Beckman Coulter, Tokyo, Japan) i Architect i1000 (Abbott, Wiesbaden, Njemačka).

Materijali i metode: Učinjena je verifikacija metoda (prema CLSI smjernicama; EP15-A2) za određivanje sva tri parametra na komercijalnim kontrolnim uzorcima (visoka i niska kontrola) BioRad Lypocheck Immunoassay Plus Control (Biorad Laboratories, Marnes-la-Coquette, Francuska) na analizatorima Unicel i Architect. Ispitane su nepreciznost u seriji i nepreciznost iz dana u dan tijekom 10 dana, za sva tri parametra u duplikatu. Podaci su prikazani koeficijentom varijacije (CV) i uspoređeni sa kriterijima prihvatljivosti prema Westgardu i proizvođaču.

Osim toga, učinjena je usporedba metoda analizom 50 uzoraka pacijenata. Statistička analiza je učinjena pomoću programa MedCalc 12.4.0.0. (MedCalc, Mariakerke, Belgium). Korelacija između dobivenih vrijednosti za svaki parametar prikazana je Spearmanovim korelacijskim koeficijentom. Učinjena je i Passing-Bablok regresijska analiza, uključujući i Cusum test za linearnost. Statistički značajna vrijednost je $P < 0,05$.

Rezultati: Izmjerene vrijednosti komercijalnih kontrola, za sve učinjene analize, bile su unutar vrijednosti preporučenih od proizvođača. Rezultati nepreciznosti u seriji i nepreciznosti iz dana u dan bile su unutar kriterija proizvođača. Vrijednosti TSH su na oba analizatora, u obje kontrole, bile unutar kriterija prihvatljivosti prema Westgardu ($I=9,7\%$), dok za FT4 ($I=2,9\%$) i FT3 ($I=4\%$) ti kriteriji nisu bili zadovoljeni niti za jedan analizator.

Passing-Bablokovom regresijskom analizom, utvrđeno je proporcionalno odstupanje između analizatora prilikom određivanja TSH ($y=0,001857+0,9087x$) i

G06

Comparison of two immunoassays for TSH, FT4 and FT3

Jelena Omazić¹, Sanja Mandić^{1,2}, Vesna Horvat^{1,2}, Vatroslav Šerić^{1,2}

¹Department of Clinical Laboratory Diagnostics, Clinical Hospital Centre Osijek, Osijek, Croatia

²University J.J. Strossmayer Medical School Osijek, Osijek, Croatia

Introduction: The thyroid-stimulating-hormone (TSH), thyroxin (FT4) and triiodothyronine (FT3) are ones of the most required tests. The aim of this study was to examine comparability of results from Unicel Dxl600 (Beckman Coulter, Tokyo, Japan) and Architect i1000 (Abbott, Wiesbaden, Germany) analyzers.

Materials and Methods: The verification of methods was done on control samples BioRad Lypocheck Immunoassay Plus Control (Biorad Laboratories, Marnes-la-Coquette, France) (level1 and level2) for all three hormones on Unicel and Architect analyzers. Control samples were tested every day in duplicate during 10 days for imprecision in series and day-to-day imprecision. Results are shown as coefficient of variation (CV) and compared with Westgard rules and with CV provided by the manufacturer. Methods comparison was conducted using 50 patient samples. Statistical analysis was performed using MedCalc 12.4.0.0 software (MedCalc, Mariakerke, Belgium). Correlation of results is show trough Spearman correlation coefficient. Passing-Bablok regression was also used, including the Cusum test for linearity. The level of significance was set at $P < 0.05$.

Results: The measured values of control samples were within the range recommended by the manufacturer. Results of the imprecision in series and day-to-day imprecision were in the range of desirable specifications provided by manufacturer. The measured values of TSH on both analyzers, were within desirable specification according to Westgard ($I=9.7\%$), while for FT4 ($I=2.9\%$) and FT3 ($I=4\%$), the measured values were not within desirable specification for neither analyzers. Passing-Bablok regression showed that there was proportional measurement error between analyzers for TSH ($y=0.001857+0.9087x$) and FT3 ($y=0.2439+0.8403x$), and constant and proportional measurement error between analyzers for FT4 ($y=4.0083+0.8183x$).

FT3 ($y=0,2439+0,8403x$), te konstantno i proporcionalno odstupanje između analizatora prilikom određivanja FT4 ($y=4,0083+0,8183x$).

Zaključak: Verifikacijom metode dobiveni su rezultati koji zadovoljavaju specifikacije proizvođača. Statističkom je obradom podataka dokazana neusporedivost rezultata dobivenih na dva analizatora što dokazuje da je za praćenje pacijenata i uspješnost liječenja, potrebno hormone štitnjače određivati na istom analizatoru.

e-adresa: jelena.omazic@gmail.com

Conclusion: Data gathered through verification of method was within range recommended by the manufacturer. Statistical analysis showed that is impossible to compare results from two different analyzers. That proves that for monitoring of patients, the thyroid hormones need to be determined always on one analyzer.

e-mail: jelena.omazic@gmail.com

G07 (Usmeno izlaganje)

Utječe li nadzor Hrvatske akreditacijske agencije (HAA) na djelotvornije prijavljivanje nesukladnosti u laboratoriju?

Domagoj Marijančević, Adriana Unić

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

Uvod: Nesukladnost je svako odstupanje od zahtjeva norme HR EN ISO 15189. Akreditirani laboratoriji obvezuju se osmisliti najprimjereniji način upravljanja nesukladnostima. Cilj istraživanja bio je ispitati utjecaj prvog nadzora tijela za ocjenjivanje sukladnosti (HAA) na razvoj svijesti o važnosti prijavljivanja nesukladnosti u laboratoriju.

Materijali i metode: Korištenjem mrežnog pogona Kliničkog zavoda za laboratorijsku dijagnostiku Kliničke bolnice Dubrava na kojem se nalazi važeća dokumentacija sustava upravljanja kvalitetom retrospektivno su dobiveni podaci o broju prijavljenih nesukladnosti prije i poslije nadzora HAA. Nesukladnosti su zatim dodatno kategorizirane prema osnovama za njihovo pokretanje.

Rezultati: U Kliničkom zavodu za laboratorijsku dijagnostiku Kliničke bolnice Dubrava u višegodišnjem periodu uspostave sustava kvalitete (prije nadzora HAA) prijavljene su svega četiri nesukladnosti. Tijekom godine dana nakon prvog nadzora HAA prijavljeno je ukupno jedanaest nesukladnosti. Prije nadzora HAA, nesukladnosti su najčešće pokretane na

G07 (Oral presentation)

Does the supervision of the Croatian Accreditation Agency (CAA) lead to more effective reporting of nonconformities in the laboratory?

Domagoj Marijančević, Adriana Unić

Clinical Department of Laboratory Diagnostics, University Hospital Dubrava, Zagreb, Croatia

Introduction: Nonconformity is any deviation from the requirements of the ISO 15189. Accredited laboratories commit to develop the most appropriate way to manage nonconformities. The aim of this study was to assess the impact of conformity assessment bodies first audit on the raise of awareness about the importance of reporting nonconformities in the medical laboratories.

Materials and Methods: Using Clinical Department for Laboratory Diagnostics network where the documentation of the QMS is distributed, the data on nonconformities before and after supervision of the CAA was retrospectively obtained. Nonconformities are then further categorized according to the grounds for their registration.

Results: During multiyear establishment of the QMS in the laboratory we reported only four nonconformities. During the year following the first CAA audit we reported eleven nonconformities in total. Before supervision of the CAA, nonconformities were mostly reported on the basis of the internal audits findings (3/4) rarely by normal application procedure of

osnovu nalaza unutarnje neovisne ocjene (3 od 4) a rijetko uobičajenim postupkom prijave nesukladnosti (1 od 4). Poslije nadzora HAA, uočljivo je povećanje broja pokrenutih nesukladnosti na osnovu nalaza unutarnje neovisne ocjene (6 od 11) a naročito povećanje primjećujemo u slučajevima standardne prijave nesukladnosti (5 od 11).

Zaključak: Budući da je nakon prvog nadzora HAA zamjetno povećan broj prijavljenih nesukladnosti u svim kategorijama, uvjereni smo kako vanjska kontrola osobito poticajno utječe na razvoj svijesti o važnosti prijavljivanja nesukladnosti u laboratoriju. Osim toga, vanjski ocjenitelji i eksperti kroz praktičnu ocjenu u laboratoriju dodatno osposobljavaju osoblje o nužnosti prijavljivanja svih nesukladnosti promovirajući atmosferu u kojoj neće biti namjernih ili slučajnih sakrivanja nesukladnosti. U konačnici, učinkovito upravljanje nesukladnostima dovodi do prijeko potrebnih popravnih i preventivnih radnji koje čine osnovu procesa neprekidnog poboljšanja i unaprjeđenja svih segmenata sustava kvalitete laboratorija.

e-adresa: dmarijan@kbd.hr

nonconformities (1/4). After supervision of the CAA, we experienced noticeable increase in the number of initiated nonconformities on the basis of the internal audits findings (6/11) and in particular we noticed the increase in standard reporting of nonconformities (5/11).

Conclusion: Considering that the first CAA audit the number of reported nonconformities was noticeably increased in all categories, we are convinced that external supervision particularly stimulates the development of awareness about the importance of reporting nonconformities. In addition, through practical assessment in the laboratory, external assessors further train the staff about the need to report all nonconformities promoting an atmosphere in which there will be no deliberate or accidental concealment of nonconformities. Ultimately, the effective management of nonconformities leads to the necessary corrective and preventive actions that form the basis for a continuous improvement process and enhancement of all segments of the quality system in the medical laboratories.

e-mail: dmarijan@kbd.hr

G08

Procjena prihvatljivosti biokemijskih metoda verificiranih na analizatoru Beckman Coulter AU5800 pomoću normaliziranog MEDx grafa

Andela Žić¹, Vesna Šupak Smolčić^{1,2}, Zvonka Bačić¹, Lidija Bilić-Zulle^{1,2}

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

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

Uvod: Zamjena postojećeg analitičkog sustava novim sustavom u laboratoriju zahtjeva provođenje analitičke verifikacije prije njegove implementacije u rutinski rad. Postupak verifikacije uključuje ispitivanje netočnosti (bias) i nepreciznosti (KV) kao mjera systemske i slučajne pogreške, a koji su potrebni za izračun ukupne pogreške metode (TE). TE predstavlja značajku kvalitete metode tj. maksimalnu pogrešku koja se može dogoditi tijekom mjernog postupka.

G08

Performance estimation of biochemical methods validated on analyzer Beckman Coulter AU5800 using normalized MEDx

Andela Žić¹, Vesna Šupak Smolčić^{1,2}, Zvonka Bačić¹, Lidija Bilić-Zulle^{1,2}

¹Clinical Department of Laboratory Diagnostics, Clinical Hospital Centre Rijeka, Rijeka, Croatia

²Department of Medical Informatics, Rijeka University School of Medicine, Rijeka, Croatia

Introduction: Prior to the implementation of a new analytical system in routine laboratory work it is required to perform analytical validation. Method validation includes measuring inaccuracy (bias) and imprecision (CV), measures of systematic and random error, essential data for calculation of the total error (TE). TE represents the measure of quality i.e. overall error that may occur during measurement. Aim of the study was to show all validated methods on nor-

Cilj rada bio je prikazati normalizirani MEDx graf za sve verificirane metode u svrhu lakše i brže procjene prihvatljivosti njihove izvedbe i upotrebe u rutinskom radu.

Materijali i metode: Postupak verifikacije 32 analitičkih metoda na analizatoru Beckman Coulter AU5800 (Beckman Coulter, SAD) proveden je tijekom srpnja 2014. godine u Kliničkom zavodu za laboratorijsku dijagnostiku, KBC Rijeka. Svaka ispitana metoda je procijenjena prema preporučenim kriterijima kvalitete iz baze podataka Minchinela i sur. (www.westgard.com/biodatabase1.htm). Ukupna pogreška (TE) izračunata je prema jednadžbi $TE = Bias + \sigma CV$ gdje σ označava željenu razinu pouzdanosti ($\sigma = 2-6$). Izražavanjem nepreciznosti i netočnosti u relativnim vrijednostima, kao postotak od ukupne pogreške moguć je prikaz svih radnih točaka na istom normaliziranom MEDx grafu. Na MEDx grafu svaka je metoda prikazana koordinatama KV i bias te procijenjena prema klasifikaciji izvedbe metode definirane sa σ vrijednošću.

Rezultati: Izvedba verificiranih analitičkih metoda prema danim kriterijima klasificirana je u sljedeće skupine: izvanredna (6σ): CK, trigliceridi, GGT, feritin, CRP; dobra (5σ): amilaza, direktni bilirubin, IgM; granična (4σ): ukupni bilirubin, IgA, ALT, kolesterol; loša (3σ): glukoza, AST, LDH, ureja, željezo; neprihvatljiva (2σ): IgG, mokraćna kiselina, ALP; točke izvan grafa: kreatinin, ukupni proteini, albumini, Mg, P, Ca, Na, K, Cl, HDL, C3, C4.

Zaključak: Rezultati analitičke verifikacije novog sustava za mnoge parametre nisu zadovoljavajući prema principima 6 sigma sustava. Normaliziranim MEDx grafom jednostavno se uočavaju metode koje je potrebno učestalije kontrolirati i na koje je potrebno primijeniti strože kriterije prihvatljivosti.

e-adresa: angela.zic@gmail.com

malized MEDx graph, simple tool for fast assessment of methods performance.

Materials and Methods: The process of validation of 32 analytical methods on the analyzer Beckman Coulter AU5800 (Beckman Coulter, USA) has been conducted during July 2014 in the Department of Laboratory Diagnostics, CHC Rijeka. Each method is evaluated according to the recommended quality criteria from the database Minchinela et al. (www.westgard.com/biodatabase1.htm). TE is calculated according to the equation $TE = Bias + \sigma CV$ where σ indicates desired confidence level ($\sigma = 2-6$). Expressing CV and bias as the percentage of the TE enables to display all operating points in the same normalized MEDx graph where each method is presented by its coordinates CV and bias and defined according to the σ value for method performance classification.

Results: According to the given criteria, performance of the validated analytical methods is classified into the following categories: excellent (6σ): CK, triglycerides, GGT, ferritin, CRP; good (5σ): amylase, direct bilirubin, IgM; border (4σ): total bilirubin, IgA, ALT, cholesterol; poor (3σ): glucose, AST, LDH, urea, iron; unacceptable (2σ): IgG, uric acid, ALP; points outside the graph: creatinine, total protein, albumin, Mg, P, Ca, Na, K, Cl, HDL, C3, C4.

Conclusion: The results of analytical validation for many parameters of the new system are not satisfactory according to six sigma. Normalized MEDx graph enables us to easily observe the methods which require more frequent control and more strict quality criteria.

e-mail: angela.zic@gmail.com

G09

Primjena fleksibilnog područja akreditacije

Ines Alpeza Viman, Anita Herceg, Dunja Rogić

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

Uvod: Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku KBC-a Zagreb zatražio je prvu akreditacijsku ocjenu s ciljem dobivanja objektivnog dokaza o uspostavi sustava upravljanja kvalitetom, odnosno o osposobljenosti za provedbu određenih laboratorijskih postupaka. Potvrda o akreditaciji s preciznim popisom tih postupaka i pripadajućim informativnim oznakama jest upravo takav dokaz.

Materijali i metode: Za prvu akreditacijsku ocjenu provedenu u veljači 2014. god. prijavljen je 71 laboratorijski postupak. Kako laboratorijski proces nije statičan, naprotiv, vrlo je dinamičan, već u trenutku dobivanja Potvrde o akreditaciji neki laboratorijski postupci su doživjeli određenu vrstu izmjene. Izmjene nisu bile suštinske, ali su rezultirale novom verzijom odgovarajućeg dokumenta - različitom od one navedene u Potvrdi o akreditaciji. Nakon godinu dana (kod redovnog nadzora) >70% laboratorijskih postupaka je u praksi i dokumentaciji bilo izmijenjeno. Prijedlog za uspostavu fleksibilnog područja akreditacije (od strane ocjenitelja) uslijedio je kao posljedica i rezultat opisanog.

Rezultati: Dokumentirano je upravljanje fleksibilnim područjem akreditacije s jasno definiranim elementima primjene: Uvjeti pod kojim se može primijeniti – izmjene se odnose samo na one elemente koji ne podrazumijevaju izmjenu metode; Granice u kojima se primjenjuje – odnosi se samo na već akreditirane laboratorijske postupke; Odgovornosti u samoj primjeni – prepoznavanje i procjena potrebe za izmjenama, verifikacija i dokumentiranje izmjena i odobrenje primjene, procjena potrebe za dodatnim osposobljavanjem, provedba osposobljavanja, pohrana zapisa itd.; Zahtjevi koji se moraju ispuniti – javno dostupan, stalno održavan, popis laboratorijskih postupaka obuhvaćenih fleksibilnim područjem akreditacije; kontinuirana samoprocjena fleksibilnog područja akreditacije.

Zaključak: Primjena fleksibilnog područja akreditacije je legalizacija uvođenja izmjena u već akreditirane laboratorijske postupke po jasno definiranim

G09

Application of a flexible scope of accreditation

Ines Alpeza Viman, Anita Herceg, Dunja Rogić

Department of Laboratory Diagnostics, University Hospital Centre Zagreb, Zagreb, Croatia

Introduction: Department of Laboratory Diagnostics, UHC Zagreb requested the first accreditation assessment to obtain objective evidence for establishing quality management system, and for its capability to implement specific laboratory procedures. Accreditation certificate with precise list of these procedures and accompanying informational labels represents such evidence.

Materials and Methods: 71 laboratory procedure were included in the first accreditation assessment conducted in February 2014. As a laboratory process is dynamic, some laboratory procedures have undergone changes at the time of obtaining certificate of accreditation. Changes were not substantial, but resulted in a new version of documents, not specified in certificate. After a year >70% of laboratory procedures were revised in documentation and practice. Therefore, assessors proposed establishment of flexible scope of accreditation.

Results: Management of flexible scope of accreditation is documented with clearly defined elements of application: Conditions under which such scope is applicable - changes apply only to elements not involving method modification; Limits within which it is applicable – it only applies to already accredited laboratory procedures; Responsibilities in the application - identification and assessment of the need for changes, verification and documentation of changes and approval of the application, estimate of the need for additional training, implementation of training, storage of records etc.; Requirements to be met - publicly available, constantly maintained list of laboratory methods covered by the flexible scope of accreditation; continuous self-assessment of such scope.

Conclusion: Application of flexible scope of accreditation is the legalization of introducing changes to already accredited laboratory procedures under clearly defined conditions. It allows proper documentation tracking of continuously present but not substantial changes. Its application can be consid-

uvjetima. Omogućava odgovarajuće dokumentacijsko praćenje stalno prisutnih, ali ne suštinskih, promjena. Svojevrsan je znak povjerenja prema tijelu za ocjenu sukladnosti, jer istovremeno podrazumijeva samostalnost uvođenja izmjena bez dodatne provjere od strane akreditacijskog tijela, ali i odgovarajući, viši stupanj odgovornosti u provedbi istih.

e-adresa: ialpeza@kbc-zagreb.hr

G10

Analitička validacija ciklosporina i takrolimusa na analizatoru Roche Cobas 6000

Katarina Čepić, Dijana Dževrnja Viro, Antonija Rodin Kurtović, Nada Bošnjak

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

Uvod: Imunosupresivi kontroliraju odbacivanje transplantata i primarno su zaslužni za uspješnost transplantacije. Međutim, oni suprimiraju sve imunološke odgovore i uzrok su brojnim posttransplantacijskim komplikacijama, uključujući pogubne infekcije. Terapijsko praćenje predstavlja efikasan način za smanjenje neželjenih nuspojava imunosupresivnih lijekova i sprječavanje odbacivanja organa. Cilj je bio odrediti analitičke značajke Roche Cobas 6000 analizatora u terapijskom praćenju ciklosporina i takrolimusa.

Materijali i metode: U svrhu analitičke validacije ciklosporina i takrolimusa metodom ECLIA (electrochemiluminescence immunoassay) na Roche Cobas analizatoru određeni su: preciznost u seriji, preciznost iz dana u dan te granice prihvatljivosti za odstupanje izmjerene vrijednosti od očekivane (engl. *bias*) na komercijalnim kontrolnim uzorcima u dvije razine kao i usporedba sa drugom imunokemijskom metodom CMIA (chemiluminiscent microparticle immunoassay) na Abbott Architect i1000 analizatoru sa humanim uzorcima (N=40).

Rezultati: Koeficijent varijacije za preciznost u seriji iznosi 1,06% i 1,9% za ciklosporin, a 2,94% i 2,52% za takrolimus, dok za preciznost iz dana u dan za ciklosporin iznosi 3,8% i 4,8%, a za takrolimus 3,45% i 2,1%. Bias za ciklosporin iznosi -4,74% i 6,8%, a za takroli-

ered a sign of confidence in assessed body, as it implies not only independence in introducing changes without additional verification of accreditation body but also appropriate - higher - level of responsibility in their implementation.

e-mail: ialpeza@kbc-zagreb.hr

G10

Analytical validation of cyclosporine and tacrolimus on Roche Cobas 6000 analyzer

Katarina Čepić, Dijana Dževrnja Viro, Antonija Rodin Kurtović, Nada Bošnjak

Department of Laboratory Diagnostics, Clinical Hospital Centre Split, Split, Croatia

Introduction: Immunossupresive drugs are used to reduce the immune response in organ transplantation and autoimmune disease. Such therapies require lifelong use and nonspecifically suppress the entire immune system, exposing patients to considerably higher risk of adverse effects. Therapeutic drug monitoring (TDM) ensures that concentrations are not too high or too low, thereby reducing the risks of toxicity or rejection, respectively. The aim of this study was to evaluate analytical performance of Roche Cobas 6000 analyzer for TDM of cyclosporine and tacrolimus.

Materials and Methods: For the purpose of analytical validation of cyclosporine and tacrolimus by ECLIA (electrochemiluminescence immunoassay) method on Roche Cobas e6000 analyzer following parameters were determined: within-run and between run imprecision, inaccuracy (bias) using two levels of commercial control materials and method comparison with analytical system Abbott Architect i1000, CMIA (chemiluminiscent microparticle immunoassay) method on human samples (N=40).

Results: Coefficients of variation (CV) for within-run imprecision were 1.06% and 1.90% for cyclosporine and 2.94% and 2.52% for tacrolimus. CV for between run imprecision were 3.85 and 4.8% for cyclosporine and 3.45% and 2.10% for tacrolimus. Inaccu-

mus -7,1% i 1,49%. Rezultat usporedbe koncentracija ciklosporina na dva analizatora regresijskom analizom po Passing-Bablocku pokazao je da postoji konstantno odstupanje između metoda ($a=21,38$; 95%CI 14,44-29,74; $b=1,036$; 95%CI 0,95-1,15). Bland-Altman plot pokazao je da postoji prosječno odstupanje između dvije imunokemijske metode. Dok je Passing-Bablock regresijska analiza za takrolimus pokazala statistički značajno ($a=0,73$; 95%CI 0,28-1,07; $b=1,00$; 95%CI 0,95-1,07), ali klinički neznatno odstupanje između metoda.

Zaključak: Analitička validacija ispunila je prethodno utvrđene kriterije te se određivanje takrolimusa i ciklosporina može uključiti u svakodnevni rad. Rezultati statističke obrade za ciklosporin i za takrolimus pokazuju neusporedivost dvije imunokemijske metode što ukazuje na potrebu praćenja ovih lijekova uvijek istom imunokemijskom metodom i na istom analizatoru.

e-adresa: katarina.cepic@kbsplit.hr

racy (bias) results for cyclosporine were -4.74% and 6.80%, and for tacrolimus -7.10% and 1.49%. Passing-Bablock regression analysis of cyclosporine comparison on two analyzers showed that there was constant deviation between methods ($a=21.38$, 95%CI 14.44-29.74; $b=1.036$, 95%CI 0.95-1.15). Bland-Altman plot showed the average deviation between two methods. Passing-Bablock regression analysis of tacrolimus comparison on two analyzers showed statistically significant but clinically insignificant ($a=0.73$, 95%CI 0.28-1.07; $b=1.00$, 95%CI 0.9-1.07) deviation between methods.

Conclusion: Analytical validation of cyclosporine and tacrolimus fulfilled all previously established criteria and could be implemented in a routine laboratory work. Data obtained by Passing-Bablock regression analysis showed that results are not completely comparable, especially for cyclosporine which confirms the importance of recommendations on monitoring the values of cyclosporine and tacrolimus on the same analyzer with the same method.

e-mail: katarina.cepic@kbsplit.hr

G11

Usporedba metoda za određivanje kreatinina na analizatorima Olympus AU400 i Dimension Xpand

Valentina Šenjug¹, Danijela Polak-Erceg¹, Anita Klasić¹, Lada Surjan²

¹Medicinsko-biokemijski laboratorij, Specijalna bolnica za medicinsku rehabilitaciju Krapinske Toplice, Krapinske Toplice, Hrvatska

²Biokemijsko-hematološki laboratorij, Opća bolnica Šibensko-kninske županije, Šibenik, Hrvatska

Uvod: Standardizacija metode za određivanje kreatinina od velike je važnosti za izračun procijenjene brzine glomerularne filtracije (eGFR) budući je eGFR najvažnija klinička primjena kreatinina. Cilj ovog rada bio je usporediti kompenziranu Jaffe metodu sa prethodno korištenom nekompenziranom Jaffe metodom, kompenziranu Jaffe metodu sa enzimatskom metodom te dvije kompenzirane metode na

G11

Comparison of methods for creatinine determination on Olympus AU400 and Dimension Xpand analyzers

Valentina Šenjug¹, Danijela Polak-Erceg¹, Anita Klasić¹, Lada Surjan²

¹Department for Biochemistry and Hematology, Hospital for Medical Rehabilitation Krapinske Toplice, Krapinske Toplice, Croatia

²Department for Biochemistry and Hematology, General Hospital Šibenik, Šibenik, Croatia

Introduction: Standardization of creatinine determination methods is of high value for estimation of glomerular filtration rate (eGFR) since eGFR is the main clinical use of creatinine. The aim was to compare compensated Jaffe method with uncompensated Jaffe method, compensated Jaffe method with enzymatic method and two compensated Jaffe methods on different analyzers used in laboratory.

različitim analizatorima koji se koriste u našem laboratoriju.

Ispitanici i metode: U ispitivanje je bilo uključeno 47 pacijenata raspona koncentracija serumskog kreatinina od 26 $\mu\text{mol/L}$ do 1061 $\mu\text{mol/L}$. Uzorci su mjereni paralelno sa četiri metode na dva različita analizatora: enzimatska metoda (A), kompenzirana Jaffe (B) i nekompenzirana Jaffe metoda (C) na Olympus AU400 i kompenzirana Jaffe metoda na Siemens Dimension Xpand analizatoru (D). Rezultati su obrađeni Passing-Bablok regresijskom analizom.

Rezultati: Usporedbom metoda dobiveno je: $y(B) = -0,23 + 1,03x(A)$, 95%CI za odsječak (-1,70-1,16), a za nagib (1,02-1,05); $y(D) = 5,88 + 0,98x(B)$, 95%CI za odsječak (4,00-7,67), a za nagib (0,96-1,00); $y(B) = -18,71 + 1,07x(C)$, 95%CI za odsječak na osi (-19,84-(-16,43)), a za nagib pravca (1,04-1,08). Rezultati pokazuju dobru usporedivost kompenzirane Jaffe metode i enzimatske metode na Olympus AU400, pri čemu nema značajne razlike u linearnosti ($P=0,11$), te konstantno odstupanje između kompenzirane metode na analizatorima Olympus AU400 i Dimension, bez značajne razlike u linearnosti metoda ($P=0,11$). Između nekompenzirane i kompenzirane metode na Olympus AU400 postoji konstantno odstupanje, a takvi rezultati bili su očekivani zbog postavke metoda.

Zaključak: Kompenzirana Jaffe metoda i enzimatska metoda na Olympus AU400 dobro su usporedive, ali se zbog cijene u rutinskom radu u našem laboratoriju koristi kompenzirana Jaffe metoda, a enzimatska samo za određivanje kreatinina kod djece. Usporedba nekompenzirane i kompenzirane metode pokazala je očekivano konstantno odstupanje zbog matematičke korekcije kompenzirane metode (18 $\mu\text{mol/L}$), zbog čega te dvije metode nisu statistički usporedive. Konstantno odstupanje između kompenziranih metoda na Olympus AU400 i Dimension Xpand je unutar dopuštenog odstupanja koje je odredilo HDMBLM u kriterijima vanjske procjene kvalitete.

e-adresa: valentina.senjuga@sbkt.hr

Subjects and Methods: Study included 47 patients, serum creatinine values 26-1061 $\mu\text{mol/L}$. The samples were measured with four different methods on two different analyzers: enzymatic method (A), compensated Jaffe (B) and uncompensated Jaffe method (C) on Olympus AU400 analyzer and compensated Jaffe method on Siemens Dimension Xpand analyzer (D). The results were analyzed using Passing-Bablok regression analysis.

Results: The obtained results were: $y(B) = -0.23 + 1.03x(A)$, 95%CI for intercept (-1.70-1.16), for slope (1.02-1.05); $y(D) = 5.88 + 0.98x(B)$, 95%CI for intercept (4.00-7.67), for slope (0.96-1.00); $y(B) = -18.71 + 1.07x(C)$, 95%CI for intercept (-19.84-(-16.43)), for slope (1.04-1.08). The results indicate good method agreement for method B and method A with no significant difference in linearity ($P=0.11$) and constant difference between method B and method D, without significant difference between linearity ($P=0.11$). There is a constant difference between method B and method C, just as expected because of the setting of the methods.

Conclusion: There is a good comparability between compensated and enzymatic method on Olympus AU400. However, we use compensated Jaffe method in routine work in our laboratory because the price is lower, while enzymatic method is used only in creatinine determination in pediatric population. The comparison of uncompensated and compensated method showed constant difference due to mathematical correction of the compensated method (18 $\mu\text{mol/L}$), which makes these methods statistically incomparable. Constant difference between the two compensated methods on Olympus AU400 and Dimension Xpand is within the allowable deviation defined by the CSMBLM in the external quality assessment criteria.

e-mail: valentina.senjuga@sbkt.hr

G12 (Usmeno izlaganje)

Terapijsko praćenje imunosupresiva: imunokemijska metoda u odnosu na tekućinsku kromatografiju s dvojnomo spektrometrijom masa (LC-MS/MS)

Andrea Radeljak¹, Tajana Filipce-Kanižaj², Matea Zoric¹, Sonja Perkov¹, Zlata Flegar-Meštrić¹

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

²Klinika za unutarnje bolesti, Klinička bolnica Merkur, Zagreb, Hrvatska

Uvod: Terapijsko praćenje imunosupresiva ključni je uvjet za prevenciju nuspojava lijekova i odbacivanje presatka zbog neadekvatne doze nakon transplantacije organa. Cilj ovog istraživanja bio je usporediti koncentracije imunosupresiva takrolimusa i ciklosporina A određene imunokemijskom metodom i tekućinskom kromatografijom s dvojnomo spektrometrijom masa (LC-MS/MS) tijekom longitudinalnog praćenja transplantiranih pacijenata.

Ispitanici i metode: Koncentracije takrolimusa (N=216) i ciklosporina A (N=163) određene su kemiluminiscentnom imunokemijskom metodom na mikročesticama (CMIA; Abbott Architect i1000SR), akreditiranom prema HRN EN ISO 15189, i on-line SPE LC-MS/MS (Shimadzu UPLC NEXERA X2 - LCMS-8040) u uzorcima pune krvi prikupljenim 12 sati nakon zadnje doze lijeka. Dobiveni rezultati bili su unutar ciljnih vrijednosti za unutarnju i vanjsku kontrolu kvalitete (Referenzinstitut für Bioanalytik, Deutschland, Survey for immunosuppressives). Usporedivost metoda testirana je Passing-Bablok linearnom regresijom. Nadalje, u 15 pacijenata je koncentracija imunosupresiva praćena istovremeno s obje metode tijekom razdoblja od 3 mjeseca analizom od 6 do 22 uzoraka, ovisno o pacijentu.

Rezultati: Usporedba metoda pokazala je usporedivost između koncentracije imunosupresiva određene imunokemijskom metodom u odnosu na LC-MS/MS prema jednadžbi: $y = -0,3575(-0,7700-0,08947) + 1,2250(1,1579-1,3000)x$ za takrolimus i $y = -6,4789(-12,2273-2,0000) + 1,5634(1,4773-1,6515)x$ za ciklosporin A. Medijan biasa bio je 17,1% (13,5%-20,3%) za takrolimusa i 50,4% (45,9% -54,9%) za ciklosporin A. Longitudinalno praćenje 15 pacijenata pokazalo je da imunokemija precjenjuje koncentracije

G12 (Oral presentation)

Immunosuppressants therapeutic drug monitoring: immunoassay vs. liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS)

Andrea Radeljak¹, Tajana Filipce-Kanižaj², Matea Zoric¹, Sonja Perkov¹, Zlata Flegar-Meštrić¹

¹Department of Medical Biochemistry and Laboratory medicine, Merkur University Hospital, Zagreb

²Department of Internal Medicine, Merkur University Hospital, Zagreb, Croatia

Introduction: Immunosuppressants therapeutic drug monitoring (TDM) is a crucial requirement for the prevention of adverse drug reaction and graft rejection due to incorrect dosage after organ transplantation. The aim of this study was to compare concentrations of immunosuppressants tacrolimus and cyclosporin A determined by immunoassay and liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) throughout longitudinal monitoring of transplanted patient.

Subjects and Methods: Tacrolimus (N=216) and cyclosporin A (N=163) concentrations were measured by chemiluminescent microparticle immunoassay (CMIA, Abbott Architect i1000SR), accredited according to HRN EN ISO 15189, and online SPE LC-MS/MS (Shimadzu UPLC NEXERA X2 - LCMS-8040) in whole blood samples collected 12 hours postdose. The obtained results were within the target values of internal and external quality assurance programme (Referenzinstitut für Bioanalytik, Deutschland, Survey for immunosuppressives). The correlation between methods was assessed using Passing-Bablok linear regression. Further, 15 patient were monitored simultaneously by both methods during period of 3 months by TDM of immunosuppressants in 6 to 22 samples, depending on patient.

Results: A method comparison showed correlation between concentrations measured with immunoassay versus LC-MS/MS according to the equation $y = -0.3575(-0.7700-0.08947) + 1.2250(1.1579-1.3000)x$ for tacrolimus and $y = -6.4789(-12.2273-2.0000) + 1.5634(1.4773-1.6515)x$ for cyclosporin A, respectively. Median of bias was 17.1%(13.5%-20.3%) for tacrolimus and 50.4%(45.9%-54.9%) for cyclosporin A. Longitudinal monitoring of 15 patients

cije takrolimusa od -10,9% do 71,1%, a ciklosporina A od -17,9% do 133,8%.

Zaključak: Rezultati našeg istraživanja u skladu su s literaturnim podacima- imunokemija precjenjuje koncentracija imunosupresiva zbog nespecifičnih križnih reakcija s metabolitima, što dovodi do ordiniranja nižih doza lijekova, čime se povećava rizik od odbacivanja organa. Stupanj precjenjivanja je individualan. Stoga je nužno longitudinalno praćenje imunosupresiva, poželjno pomoću LC-MS/MS, koji je zlatni standard u terapijskom praćenju lijekova, zbog izrazite specifičnosti, osjetljivosti i niske cijene analize.

e-adresa: radeljak.andrea@gmail.com

G13 (Usmeno izlaganje)

Usporedba dviju ELISA metoda za određivanje koncentracije kalprotektina u stolici u pedijatrijskoj populaciji

Irena Linarić, Jasna Obuljen

Odjel za medicinsku biokemiju i hematologiju, Zavod za laboratorijsku dijagnostiku, Klinika za dječje bolesti Zagreb, Zagreb, Hrvatska

Uvod: Kalprotektin je neinvazivni biljeg crijevne upale, klinički značajan u dijagnostici i praćenju kronične upalne crijevne bolesti (KUCB). Cilj istraživanja bio je ispitati podudarnost i dijagnostičku točnost dviju ELISA metoda za određivanje koncentracije kalprotektina u stolici u dječjoj populaciji.

Materijali i metode: U istraživanje je bilo uključeno 68 djece (dob 4-17 godina), s kliničkom sumnjom na KUCB. Koncentracija kalprotektina u stolici određena je dvjema ELISA metodama: Calprest ELISA (Eurospital, Italija) i Calprotectin ELISA (Bühlmann Laboratories AG, Njemačka). Dijagnostički kriterij za KUCB bio je pozitivan nalaz crijevne biopsije.

Rezultati: Ispitivanje podudarnosti dvije ELISA metode za kalprotektin Passing-Bablok regresijskom analizom pokazalo je da među metodama ne postoji konstantna razlika ($A=0$), ali je prisutna značajna proporcionalna razlika ($B\neq 1$): regresijska jednadžba pravca $y=-2,2860+0,5882x$ uz 95%-tni interval pouz-

showed that the degree of overestimation by immunoassay varied from -10.9% to 71.1% (tacrolimus) and -17.9% to 133.8% (cyclosporin A).

Conclusion: Results of our study are in agreement with literature data - immunoassay overestimates drugs concentration due to nonspecific cross-reaction with metabolites, consequently leading to underdosage of the drug and increasing the risk of organ rejection. The degree of overestimation is individual. Therefore, longitudinal monitoring of immunosuppressants is necessary, preferably using LC-MS/MS as a gold standard in TDM owing to its substantial specificity, sensitivity and low cost of analysis.

e-mail: radeljak.andrea@gmail.com

G13 (Oral presentation)

Comparison of two ELISA methods for measuring the concentration of fecal calprotectin in the pediatric population

Irena Linarić, Jasna Obuljen

Department of Medical Biochemistry and Hematology, Department of Laboratory Diagnostics, Children's hospital Zagreb, Zagreb, Croatia

Introduction: Calprotectin is non-invasive marker of intestinal inflammation, clinically significant in the diagnosis and monitoring of chronic inflammatory bowel disease (IBD). The aim of this study was to examine the correlation and diagnostic accuracy of two ELISA methods for measuring the concentration of fecal calprotectin in the pediatric population.

Materials and Methods: The study included 68 children (age 4-17 years) with clinical suspicion of IBD. The concentration of fecal calprotectin was determined by two ELISA methods: Calprest (Eurospital, Italy) and Calprotectin (Bühlmann Laboratories AG, Germany). Diagnostic criteria for IBD was positive finding of colonoscopy.

Results: Passing-Bablok regression was used for method comparison of two calprotectin ELISA methods. Regression analysis demonstrated no constant difference ($A=0$), but significant proportional difference ($B\neq 1$); regression equation $y=-2.2860+0.5882x$

danosti (95%CI) za odsječak (A) od -17,1360 do 2,3520 koji uključuje vrijednost 0 (A=0) i 95%CI za nagib (B) od 0,5388 do 0,6425, koji ne uključuje vrijednost 1 (B≠1). Dijagnostička točnost ELISA metoda ispitana ROC (engl. *receiver operating characteristic*) analizom pokazala je izvrsnu dijagnostičku točnost obje metode, uz površine ispod krivulja (AUC, engl. *area under the curve*) 0,973 (95%CI=0,901-0,997) za Calprest metodu i 0,982 (95%CI=0,915-0,999) za Calprotectin metodu. Usporedba površina ispod krivulja pokazala je da se dijagnostička točnost dvije metoda statistički značajno ne razlikuje (P=0,218), pa obje metode imaju jednaku dijagnostičku točnost. ROC analizom izračunata optimalna granična vrijednost za Calprest metodu je 188 mg/kg (uz osjetljivost 90,7% i specifičnost 96%), a za Calprotectin metodu 383 mg/kg (uz osjetljivost 90,7% i specifičnost 100%).

Zaključak: Ispitivanje usporedivosti Calprest i Calprotectin ELISA metoda za određivanje kalprotektina u stolici pokazalo je da među metodama ne postoji značajna konstantna razlika, ali postoji značajna proporcionalna razlika, te se ove metode ne mogu smatrati podudarnima i ne mogu se istodobno koristiti u dijagnostici i praćenju bolesnika. ROC analizom pokazana je izvrsna i jednaka dijagnostička točnost obje metode.

e-adresa: irenalinarić16@gmail.com

G14

Usporedba monoklonalne i poliklonalne ELISA metode za određivanje koncentracije fekalne elastaze u stolici u pedijatrijskoj populaciji

Jasna Obuljen, Irena Linarić, Ana Milčić

Odjel za medicinsku biokemiju i hematologiju, Zavod za laboratorijsku dijagnostiku, Klinika za dječje bolesti Zagreb, Zagreb, Hrvatska

Uvod: Određivanje koncentracije fekalne elastaze (FE) u uzorku stolice klinički je značajno u dijagnostici insuficijencije egzokrinog pankreasa različite etiologije, uključujući cističnu fibrozu, Shwachmanov sindrom, kronični pankreatitis, kolelitijazu, ali i potranjenost uzrokovanu disfunkcijom pankreasa. Cilj

with 95% confidence interval (95%CI) for the section (A) -17.1360-2.3520 that includes the value 0 (A=0) and the 95%CI for the slope (B) from 0.5388-0.6425, which does not include the value 1 (B≠1). The receiver operating characteristic (ROC) analysis showed excellent diagnostic accuracy of both methods, with the area under the curve (AUC) 0.973(95%CI 0.901-0.997) for Calprest method and 0.982 (95%CI 0.915-0.999) for Calprotectin method. Comparison of AUC showed that the diagnostic accuracy of the two methods are not significantly different (P=0.218). ROC analysis showed optimal cut-off values for Calprest and Calprotectin methods of 188 mg/kg (sensitivity 90.7%, specificity 96%) and 383 mg/kg (sensitivity 90.7%, specificity 100%), respectively.

Conclusion: Comparative testing of Calprest and Calprotectin ELISA methods for the determination of fecal calprotectin showed no constant significant difference, but significant proportional differences. These methods are not comparable and cannot be simultaneously used in the diagnosis and monitoring of patients. ROC analysis showed excellent and equal diagnostic accuracy of both methods.

e-mail: irenalinarić16@gmail.com

G14

Comparison of monoclonal and polyclonal ELISA method for determination of the fecal elastase in stool in the pediatric population

Jasna Obuljen, Irena Linarić, Ana Milčić

Department of Medical Biochemistry and Hematology, Department of Laboratory Diagnostics, Children's hospital Zagreb, Zagreb, Croatia

Introduction: Determination of fecal elastase (FE) in stool is clinically significant in diagnosis of pancreatic insufficiency of various etiologies, including cystic fibrosis, Shwachman syndrome, chronic pancreatitis, cholelithiasis, and malnutrition caused by dysfunction of pancreas. The aim of this study was

istraživanja bio je usporedba dviju ELISA metoda za određivanje koncentracije FE u stolici u djece.

Materijali i metode: U istraživanje je bilo uključeno 55 djece (dob: 2 mjeseca-17 godina) s kliničkom sumnjom na insuficijenciju egzokrinog pankreasa. Koncentracija FE u stolici određena je ScheBo pancreatic elastase 1 (ScheBo Biotech AG, Njemačka) ELISA metodom s monoklonskim protutijelom i Bioserv pancreatic elastase (Bioserv Diagnostics GmbH, Njemačka) ELISA metodom koja rabi poliklonsko protutijelo. Mjerni raspon za obje metode je 15-500 µg/g, a koncentracija FE <200 µg/g je granična vrijednost koja upućuje na insuficijenciju egzokrinog pankreasa.

Rezultati: Iz histograma raspodjele podataka dobivenih analizom rezultata s obje metode utvrđeno je da nije moguće primijeniti regresijsku analizu za usporedbu metoda. Usporedba rezultata mjerenja učinjena je analizom podudarnosti rezultata u odnosu na graničnu vrijednost (200 µg/g). Ova je analiza pokazala zadovoljavajuću podudarnost (39/55; 0,71) rezultata obje ELISA metode u području normalnih vrijednosti FE (>200 µg/g). Usporedba rezultata u području sniženih vrijednosti FE (<200 µg/g) pokazala je nezadovoljavajuću podudarnost ispitanih metoda, pri čemu su ScheBo metodom vrijednosti FE <200 µg/g izmjerene u 3 djece, a Bioserv metodom u 16 djece, što znači da su metode u području sniženih vrijednosti FE bile podudarne u 3/16, a nepodudarne u čak 13/16 djece.

Zaključak: Ispitivanje podudarnosti monoklonalne ScheBo metode i poliklonalne Bioserv metode pokazalo je nezadovoljavajuću usporedivost rezultata u području sniženih vrijednosti (<200 µg/g) FE koje su klinički značajne u dijagnostici insuficijencije egzokrinog pankreasa. Daljnjim ispitivanjima potrebno je utvrditi moguće razloge nepodudarnosti ispitanih metoda. Prema nekim literaturnim podatcima poliklonalna metoda pokazuje veću osjetljivost od monoklonalne metode, čime bi se mogla djelomično objasniti i u ovom ispitivanju utvrđena nepodudarnost u području niskih vrijednosti.

e-adresa: jasna.obuljen@xnet.hr

to compare two ELISA methods for quantification of FE in pediatric population.

Materials and Methods: The study included 55 children (aged 2 months to 17 years) with clinical suspicion of pancreatic insufficiency. The concentration of FE was determined with ScheBo stool pancreatic elastase (ScheBo Biotech AG, Germany) ELISA (monoclonal antibody) and Bioserv pancreatic elastase (Bioserv Diagnostics GmbH, Germany) ELISA (polyclonal antibody). The measuring range for both methods is 15-500 µg/g and the concentration of FE <200 µg/g is the cut-off value indicating the insufficiency of the exocrine pancreas.

Results: Histogram distribution data obtained by analyzing the results from both methods showed that regression analysis could not be applied to compare these methods. Analysis of compatibility of results was made by comparison of results to the cut-off value (200 µg/g). Results indicated satisfactory correlation (39/55, 0.71) of the results of both ELISA methods within the reference range (>200 µg/g). In the area of reduced FE values (<200 µg/g) results were matched in 3/16: ScheBo method detected 3 children with reduced values, whereas Bioserv method detected 16 children, therefore methods were inconsistent in 13/16 children.

Conclusion: Compatibility trial of monoclonal Schebo and polyclonal Bioserv method showed unsatisfactory comparability of results in the area of reduced values that are clinically significant in the diagnosis of pancreatic insufficiency. Further testing is necessary to determine the possible reasons for discrepancies of these methods. According to the literature data, polyclonal method shows higher sensitivity than monoclonal method, which could partially explain the discrepancy found in the area of low values in this study.

e-mail: jasna.obuljen@xnet.hr

G15

Verifikacija potpuno automatizirane metode za određivanje Anti-Mullerian hormona u serumu na automatskom analizatoru Roche Cobas e601

Daniela Šupe-Domić, Lada Stanišić, Antonija Rodin-Kurtović, Nada Bilopavlović, Branka Knežević

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

Uvod: Anti-Mullerian hormon (AMH) se najčešće koristi za procjenu ovarijske rezerve i odgovora na kontroliranu stimulaciju jajnika što zahtjeva pravovremeno izdavanje nalaza. U našem laboratoriju AMH se određivao jednom mjesečno modificiranom AMH Gen II (Beckman Coulter, Republika Češka) ELISA metodom na analizatoru Elisys Duo (Human, Njemačka). Cilj je bio verifikacija potpuno automatizirane elektrokemiluminiscentne metode (ECLIA) za određivanje AMH u serumu na analizatoru Roche Cobas e601 (Roche, Njemačka) i usporedba s rutinskom AMH Gen II ELISA metodom.

Materijali i metode: Verifikacija metode je obuhvatila slijedeće parametre: preciznost u seriji (ponovljivost), preciznost iz dana u dan (međupreciznost) i usporedbu s rutinskom ELISA metodom koju je i proizvođač koristio u postupku validacije metode. Za ispitivanje preciznosti kroz 5 dana u triplikatu su analizirani uzorci seruma pacijenata s koncentracijama AMH (Uzorak 1=6,38 pmol/L i Uzorak 2=21,67 pmol/L) blizu koncentracija humanih uzoraka na kojima je proizvođač deklarirao preciznosti (5,31 pmol/L i 18,20 pmol/L). Usporedba metoda prevedena je na 40 uzoraka seruma (raspon koncentracija 0,92-38,6 pmol/L), a dobiveni rezultati su statistički obrađeni korištenjem Passing-Bablok i Bland-Altman analize u programu MedCalc (Mariakerke, Belgija).

Rezultati: Dobiveni koeficijenti varijacije za ponovljivost (CVp) bili su 0,65% i 0,65% (deklarirani CVp: 1,1% i 1,2%), a za međupreciznost (CVm) 0,81% i 1,8% (deklarirani CVm 4,0% i 3,3%). Regresijskom analizom prema Passing-Babloku dobiveno je: $y(\text{Roche})=0,39(95\%CI (-1,31)-0,83)+0,77(95\%CI 0,67-0,94)x$. Na Bland-Altman prikazu razlika srednjih vrijednosti u prosjeku je iznosila 2,5 pmol/L ((95%CI (-4,3)-9,4) uz najveće, ujedno i klinički značajne razli-

G15

Verification of fully automated method for measuring Anti Mullerian hormone in serum on Roche Cobas e601 analyzer

Daniela Šupe-Domić, Lada Stanišić, Antonija Rodin-Kurtović, Nada Bilopavlović, Branka Knežević

Department of Laboratory Diagnostics, Clinical Hospital Centre Split, Split, Croatia

Introduction: Measurement of Anti Mullerian hormone (AMH) is mainly used for assessment of ovarian reserve and prediction of response to controlled stimulation which demands timely results reporting. In our laboratory AMH was measured monthly with modified AMH Gen II (Beckman Coulter, Czech Republic) ELISA method on ElisysDuo (Human, Germany) analyzer. The aim of this study was verification of first fully automated electrochemiluminescence immunoassay (ECLIA) for AMH determination on Roche Cobas e601 (Roche, Germany) analyzer and comparison with routine AMH Gen II ELISA method.

Materials and Methods: Verification included following parameters: within-run precision (repeatability), between-run precision and comparison with routine ELISA method, the same one used by manufacturer in method validation process. For precision determination patient serum samples with AMH concentrations (Sample 1=6.38 pmol/L, Sample 2=21.67 pmol/L) close to concentrations of human serums at which manufacturer claims precision (5.31 pmol/L and 18.20 pmol/L), were analyzed in three replicates over five days. Method comparison study was done using 40 serum samples (concentration range 0,92 – 38,6 pmol/L) and Passing-Bablok and Bland-Altman analysis of data was performed using MedCalc(Mariakerke, Belgium) program.

Results: Coefficients of variation were 0.65% and 0.65% for repeatability (manufacturer's claim: 1.1% and 1.2%); 0.81% and 1.8% for between-run precision (manufacturer's claim: 4.0% and 3.3%). Passing-Bablok regression analysis yielded following equation: $y(\text{Roche})=0.39(95\%CI (-1.31)-0.83)+0.77(95\%CI 0.67-0.94)x$. Bland-Altman plot showed mean difference of 2.5 pmol/L ((95%CI (-4.3)-9.4) with the largest and also clinically significant differences at 10-20 pmol/L concentration range where the cut-off limit

ke u koncentracijskom području od 10-20 pmol/L tj. na granici između smanjene i optimalne plodnosti.

Zaključak: Verifikacijom preciznosti dobiveni su rezultati koji zadovoljavaju specifikacije proizvođača. Razlike između metoda dobivene usporednom analizom potvrdile su prije objavljene podatke o slaboj usporedivosti metoda. Zbog potpune automatizacije, mogućnosti svakodnevnog izdavanja nalaze i izvrsne preciznosti AMH ECLIA metoda je uvedena u rutinski rad.

e-adresa: antonija.kurtovic@gmail.com

that separates patients with decreased and optimal fertility lies.

Conclusion: Precision verification of AMH ECLIA obtained results that fully satisfy manufacturer specifications. Differences obtained in comparison study confirmed previously published data about poor method agreement. Because of full automation, daily results reporting and great precision AMH ECLIA method was introduced in our routine practice.

e-mail: antonija.kurtovic@gmail.com

G16

Usporedba unutarlaboratorijske preciznost, istinitosti i ukupne pogreške mjernih postupaka CMIA i ECLIA metode za određivanje ciklosporina

Marina Njire Bratičević, Antonija Perović, Diana Ljubimir

Odjel za biokemijsku i hematološku laboratorijsku dijagnostiku, Opća bolnica Dubrovnik, Dubrovnik, Hrvatska

Uvod: Verifikacija mjernih postupaka u laboratoriji- ma kojom provjeravamo navode proizvođača otvara mogućnost usporedbe različitih metoda. Cilj ovog rada bio je usporediti unutarlaboratorijsku preciznost (KV_{SI}), istinitost (BIAS) i ukupnu pogrešku (TE) mjernih postupaka za određivanje ciklosporina CMIA (engl. *chemiluminescent microparticle immunoassay*) i ECLIA (engl. *electro-chemiluminescence immunoassay*) metodom.

Materijali i metode: Slijedeći protokol CLSI smjernica EP15-A2, proveli smo verifikaciju mjernih postupaka za određivanje ciklosporina CMIA metodom na uređaju Architect i2000_{SR} (Abbott Laboratories, Illinois, SAD) i ECLIA metodom na uređaju Elecsysu 2010 (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany). Za oba mjerna postupka kalibracija je izvršena prvog dana verifikacije. Koncentracija ciklosporina mjerena je u dvije koncentracijske razine kontrolnog materijala (L_1 i L_3) u triplicatu tijekom 5 dana. Korišteni kontrolni materijal za CMIA-Abbott metodu bio je MultiChem WBT (Technopath, Ireland) ciljnih vrijednosti 92,3 ng/mL i 905 ng/mL te za ECLIA-Roche metodu PreciCon-

G16

Comparison of within-laboratory precision, trueness and a total error of measurement procedures for CMIA and ECLIA methods in cyclosporine measurement

Marina Njire Bratičević, Antonija Perović, Diana Ljubimir

Department of Biochemical and Hematological Laboratory Diagnostics, General Hospital Dubrovnik, Dubrovnik, Croatia

Introduction: In the laboratory, verification of measurement procedures opens the possibility to compare different methods. The aim of this study was to compare within-laboratory precision (CV_{SI}), trueness (BIAS) and total error (TE) for CMIA (Chemiluminescent microparticle immunoassay) and ECLIA (Electrochemiluminescence immunoassay) method used for cyclosporine measurement.

Materials and Methods: According to CLSI guideline protocol EP15-A2, verification of measurement procedures for cyclosporine measurement was conducted for CMIA method on Architect i2000_{SR} (Abbott Laboratories, Illinois, USA) and for ECLIA method on Elecsys 2010 (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany). For both measurement procedures calibration was performed on the first day. Cyclosporine concentration was measured in quality control materials in two concentration levels (L_1 and L_3) in triplicate for 5 days. Used control material for CMIA-Abbott method was MultiChem WBT (Technopath, Ireland) target values 92.3 ng/mL and 905 ng/mL and for ECLIA-Roche method PreciCon-

trol ISD (Roche Diagnostics GmbH, Germany) ciljnih vrijednosti 91,5 ng/mL i 1170 ng/mL. Potrebna pre-dobrada svih uzoraka rađena je korištenjem iste au-tomatske pipete. Dobivena vrijednosti za preciznosti uspoređena je prema kriterijima proizvođača.

Rezultati: Preciznosti mjernih postupaka za određi-vanje ciklosporina CMIA-Abbott i ECLIA-Roche meto-dom zadovoljile su postavljene kriterije proizvođača. Dobivene vrijednosti za CMIA-Abbott vs ECLIA-Roc-he metodu za unutarlaboratorijsku preciznost (KV_{SI}), istinitost (BIAS) i ukupnu pogrešku (TE) iznosile su: KV_{SI} (L1) 13,87% vs 2,91% i KV_{SI} (L3) 9,49% vs 2,23%, BIAS (L1) -8,86% vs 1,57% i BIAS (L3) -14,91% vs 1,37%, TE(L1) 36,04% vs 7,27% i TE(L3) 33,51% vs 5,74%.

Zaključak: Uz prednost jednostavnije i brže predo-brade uzoraka, mjerni postupak ECLIA-Roche meto-de pokazao je bolju preciznost, bolju istinitost pre-ma ciljnim vrijednostima kontrolnog materijala te manju ukupnu pogrešku mjerenja.

e-adresa: marinanjire@yahoo.com

G17 (Usmeno izlaganje)

Analička verifikacija Combur¹⁰Test[®] M traka i urinskog analizatora Cobas u411

Alen Vrtarić, Nora Nikolac, Marijana Miler, Ana-Maria Šimundić

Klinički zavod za kemiju, Klinički bolnički centar Sestre milosrdnice, Zagreb, Hrvatska

Uvod: Cilj rada bio je: a) verificirati urinske test-trake za kemijski pregled mokraće Combur¹⁰Test[®] M (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim) na analizatoru Cobas u411; b) procijeniti usporedivost analizatora Cobas u411 i Miditron Junior II (oba Roche Diagno-stics, GmbH, Mannheim)

Materijali i metode: Analička verifikacija provede-na je prema CLSI smjernici EP12-A. Preciznost u seri-ji je ispitana na 10 uzastopno ponovljenih mjerenja na uzorku negativne kontrole (BIORAD, Liquicheck Urinalysis Control Level 1) i dva uzorka bolesnika s patološkim vrijednostima. Preciznost iz dana u dan je ispitana na kontrolnim uzorcima (Level 1 i 2) u duplikatu tijekom 10 dana. Usporedivost je ispitana usporedbom 87 uzoraka bolesnika na analizatoru

trol ISD (Roche Diagnostics GmbH, Germany) target values 91.5 ng/mL and 1170 ng/mL. Pretreatment of all used samples was performed using the same au-tomatic pipette. Resulting values for precision were compared against the manufacturer's criteria.

Results: Precision of measurement procedu-res CMIA-Abbott and ECLIA-Roche method meet manufacturer's set criteria. Obtained values for CMIA-Abbott vs. ECLIA-Roche method for within-laboratory precision (CV_{SI}), trueness (BIAS) and to-tal error (TE) were as following: CV_{SI} (L1) 13.87% vs. 2.91% and CV_{SI} (L3) 9.49% vs. 2.23%, BIAS (L1) -8.86% vs. 1.57% and BIAS (L3) -14.91% vs 1.37%, TE (L1) 36.04% vs. 7.27% and TE (L3) 33.51% vs. 5.74%.

Conclusion: With the advantage of easier and fa-ster sample pretreatment, measurement procedure for ECLIA-Roche method showed better accuracy, better trueness according to target values assigned to control materials and lower total error.

e-mail: marinanjire@yahoo.com

G17 (Oral presentation)

Analytical verification of Combur¹⁰Test[®] M strips and urine analyzer Cobas u411

Alen Vrtarić, Nora Nikolac, Marijana Miler, Ana-Maria Šimundić

University Department of Chemistry, University Hospital Centre Sestre Milosrdnice, Zagreb, Croatia

Introduction: Our aim was to: a) verify urinary test strips for urine chemistry analysis Combur¹⁰Test[®] M (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim) on analyz-er Cobas u411; b) asses the comparability of Cobas u411 and Miditron Junior II (both Roche Diagnostics, GmbH, Mannheim).

Materials and Methods: Analytical verification was performed according to CLSI guideline EP12-A. Repetability was tested on 10 consecutively re-peated measurements on negative control (BIORAD, Liquicheck Urinalysis Control Level 1) and in two patient samples with pathological values. Precision from day-to-day was assessed on control samples (Level 1 and 2) in duplicate for 10 days. Comparabil-ity was evaluated comparing 87 patient's samples

Cobas u411 i Miditron Junior II. Točnost za glukozu, bilirubin i proteine ispitana je usporedbom rezultata test-trake s koncentracijama izmjerenim referentnom metodom na analizatoru Architect c8000 (Abbott, IL, SAD). Preciznost je procijenjena stupnjem slaganja ponovljenih mjerenja, točnost stupnjem slaganja s rezultatom referentne metode, usporedivost izračunom kapa koeficijenta s 95%-tnim intervalom pouzdanosti. Kriteriji prihvatljivosti bili su: preciznost: 90% podudarnosti, pH: prihvatljivo odstupanje ± 1 pH jedinica, specifična težina: prihvatljivo odstupanje $\pm 0,005$ i usporedivost: kapa koeficijent $\geq 0,6$. Za statističku obradu podataka korišten je MedCalc (v12.7.2.0, Ostend, Belgium).

Rezultati: Svi dobiveni rezultati za preciznost zadovoljili su definirane kriterije, osim jednog uzorka bolesnika koji nije zadovoljio kriterije za ponovljivost za leukocite (slaganje 8/10 mjerenja). Usporedivost između analizatora za sve pretrage bila je zadovoljavajuća, osim za bilirubin (kapa=0,370 (0,112-0,628)). Točnost za bilirubin je bila zadovoljavajuća (slaganje 10/10). Uočena odstupanja za proteine (8/10) i glukozu (6/10) nisu bila klinički značajna.

Zaključak: Rezultati dobiveni analitičkom verifikacijom za kvalitativni pregled mokraće na analizatoru Cobas u411 sukladni su s definiranim kriterijima te se prihvaćaju za svakodnevni rutinski rad. Odstupanja u provjeri točnosti za glukozu i proteine nisu klinički značajna i posljedica su metodoloških razlika. Analizatori su usporedivi, osim za određivanje bilirubina.

e-adresa: alenvrtaric@gmail.com

G18

Verifikacija metode za određivanje humanog korionskog gonadotropina na analizatoru Cobas e411

Petra Filipi, Monika Doželenčić, Ivana Zec, Marijana Miler, Nora Nikolac, Ana-Maria Šimundić

Klinički zavod za kemiju, Klinički bolnički centar Sestre milosrdnice, Zagreb, Hrvatska

Uvod: Cilj rada bio je provjeriti ponovljivost, utjecaj interferencije hemolize i prenošenje analita (engl.

on analyzers Cobas U411 and Miditron Junior II. Accuracy for glucose, bilirubin and proteins was tested by comparing the results of test strips with values measured by reference method on analyzer Architect c8000 (Abbott, IL, USA). Precision was estimated by the degree of agreement of repeated measurements, accuracy by the degree of agreement with result of reference method. Comparability was expressed with kappa coefficient with 95% confidence interval. Acceptance criteria were: precision: 90% agreement of repeated measurements, pH: acceptable bias ± 1 pH unit, specific gravity: acceptable bias ± 0.005 and comparability: kappa coefficient ≥ 0.6 . MedCalc (v12.7.2.0, Ostend, Belgium) was used for statistical analysis.

Results: Precision was acceptable for all parameters, except for leukocytes in one patient's sample (agreement for only 8/10 measurements). Comparability between analyzers was satisfactory, except for bilirubin (kappa=0.370 (0.112 to 0.628)). Accuracy for bilirubin was satisfactory (agreement 10/10). The observed differences in proteins (8/10) and glucose (6/10) were not clinically significant.

Conclusion: Analytical performance of Combur¹⁰Test[®] M on Cobas u411 analyzer are within acceptance limits. Observed bias for glucose and proteins are not clinically significant and are caused by differences in methodology. Analyzers are comparable, except for bilirubin measurement.

e-mail: alenvrtaric@gmail.com

G18

Verification of the method for determining human chorionic gonadotropin on Cobas e411 analyzer

Petra Filipi, Monika Doželenčić, Ivana Zec, Marijana Miler, Nora Nikolac, Ana-Maria Šimundić

University Department of Chemistry, University Hospital Centre Sestre milosrdnice, Zagreb, Croatia

Introduction: The aim of this study was to check the reproducibility, hemolysis interference and car-

carryover) u metodi za određivanje humanog korionskog gonadotropina (hCG) na analizatoru Cobas e411 (Roche, Mannheim, Germany).

Materijali i metode: Ponovljivost je ispitivana na kontrolnim uzorcima (Preci Control Universal 1 i 2) u dvije koncentracijske razine tijekom pet dana u triplicatu. Korišteni su kriteriji prihvatljivosti proizvođača: CV(PCU1)=2,1%; CV(PCU2)=4,0%. Utjecaj hemolize ispitan je na tri koncentracijske razine hCG-a prema CLSI protokolu EP7-A2. Hemolizat plazme pripremljen je metodom osmotskog šoka. Hemolitični uzorci su pripremljeni dodavanjem hemolizata u rastućem koncentracijskom nizu do konačnih koncentracija slobodnog hemoglobina od 0 (bez hemolizata), 2,5; 5,0; 7,5 i 10,0 g/L hemoglobina. Za procjenu utjecaja interferencije hemolize, korišteni su kriteriji prihvatljivosti RCPA (engl. *Royal College of Pathologists of Australasia*): ± 1 IU/L za hCG <10,0 IU/L; $\pm 10\%$ za hCG >10,0 IU/L. Prenošenje analita ispitano je analizom uzorka niske koncentracije hCG-a u triplicatu, neposredno nakon uzorka visoke koncentracije u duplikatu, prema IUPAC (engl. *International Union of Pure and Applied Chemistry*) protokolu. Svi uzorci analizirani su na analizatoru Cobas e411 originalnim reagensom. Statistička obrada podataka napravljena je pomoću programa Microsoft Excel.

Rezultati: Za nižu koncentracijsku razinu ponovljivost je bila izvan dozvoljenih kriterija (2,8% za PCU1 i 1,5% za PCU2). U ispitivanju utjecaja hemolize, najveća odstupanja na koncentracijskim razinama 181 mU/mL i 3076 mU/mL iznosila su 6,1% i -7,5%. U uzorcima s niskom koncentracijom hCG-a (7,9 mU/mL) odstupanje je bilo veće od 1 IU/L za koncentracije Hb >5 g/L. U ispitivanju prenošenja analita nije dokazan porast koncentracije hCG-a u uzorku s niskom koncentracijom.

Zaključak: Metoda za određivanje hCG-a ima zadovoljavajuću ponovljivost. Utjecaj hemolize je klinički značajan isključivo u uzorcima s nižim koncentracijama analita pri koncentraciji hemoglobina iznad 5 g/L. Kod određivanja hCG-a nema prenošenja analita s uzorka visoke koncentracije.

e-adresa: petrafilipi6@gmail.com

ryover for human chorionic gonadotropin (hCG) test on Cobas e411 analyzer (Roche, Mannheim, Germany).

Materials and Methods: The reproducibility was examined using control samples (Preci Control Universal 1 and 2) for five days in triplicate. Manufacturers acceptability criteria were used: CV (PCU1)=2.1%; CV (PCU2)=4.0%. The impact of hemolysis was tested at three hCG concentration levels according to CLSI protocol EP7-A2. Plasma hemolysate was prepared by osmotic shock. Hemolytic samples were prepared by adding hemolysate in increasing concentrations to reach free hemoglobin concentrations of 0 (no hemolysate), 2.5; 5.0; 7.5 and 10.0 g/L. To assess the impact of hemolysis, RCPA (*Royal College of Pathologist of Australasia*) acceptability criteria were used: ± 1 IU/L for hCG <10.0 IU/L; $\pm 10\%$ for hCG >10.0 IU/L. Effect of carryover was examined by analyzing the low concentration sample in triplicate, immediately after the sample with high concentration in duplicate, according to the IUPAC (*International Union of Pure and Applied Chemistry*) protocol. All samples were analyzed on Cobas e411 with original reagent. Statistical analysis was performed using Microsoft Excel.

Results: For lower concentration level, reproducibility was out of the acceptable criteria (2.8% for PCU1 and 1.5% for PCU2). In examination of hemolysis interference, the maximum biases in the concentration levels of 181 and 3076 mU/mL were 6.1% and -7.5%. In samples with low hCG concentration (7.9 mU/mL), bias was greater than 1 IU/L in the sample with Hb>5 g/L. We did not observe false positive results in the carryover experiment.

Conclusion: The method for hCG determination has satisfactory reproducibility. Impact of hemolysis was clinically significant only in the samples with low analyte concentrations in hemoglobin levels above 5 g/L. There is no influence of carryover from samples with the high concentration.

e-mail: petrafilipi6@gmail.com

G19 (Usmeno izlaganje)

Verifikacija metode prealbumina na analizatoru Beckman Coulter AU680

Snježana Hrabrić Vlah¹, Davor Valenčić¹, Lidija Bilić-Zulle^{1,2}

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

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

Uvod: U kliničkoj praksi prealbumin se smatra dobrim pokazateljem pothranjenosti organizma proteinima, ali i kao negativni reaktant akutne faze. Cilj je bio procijeniti pouzdanost imunoturbidimetrijske metode mjerenja koncentracije prealbumina na analizatoru Beckman Coulter AU680 (Beckman Coulter, Brea, California, USA) prije rutinske primjene u laboratoriju te ispitati usporedivost rezultata s referentnim analitičkim sustavom Cobas c501 (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany).

Materijali i metode: Provedena je skraćena verifikacija analitičke metode prealbumina na ispitivanom analizatoru Beckman Coulter AU680. Vrijednosti prealbumina određeni su tijekom 5 dana u triplicatu u dva koncentracijska nivoa (ukupno 30 mjerenja). Korišten je komercijalni kontrolni materijal ITA Control Sera L2 i L3. Verifikacija obuhvaća: preciznost u seriji (KVp), međupreciznost iz dana u dan (KVm) i procjenu mjerne istinitosti (bias) utvrđivanjem odstupanja izmjerene od očekivane vrijednosti (10 dana, ITAL2 i ITAL3). Usporedivost metode je ispitana paralelnim mjerenjem uzoraka bolesnika (N=20) na referentnom analizatoru Cobas C501 i ispitivanom analizatoru Beckman Coulter AU680 u širem koncentracijskom rasponu.

Rezultati: Rezultati preciznosti u seriji za analizator Beckman Coulter AU680 su: KVp za ITAL2=1,05%, te za ITAL3=2,12%. KVm za preciznost iz dana u dan bila je za ITAL2=3,7%, dok za ITAL3=5,44%. Rezultati mjerne istinitosti (bias) za analizator AU680 bili su ITAL2=-0,7% i ITAL3=-4,1%. Rezultati usporednih mjerenja koncentracije prealbumina na dva analizatora obrađeni su regresijskom analizom po Passing-Babloku. Rezultati pokazuju dobru podudarnost ($y=0,0230435 + 1,043478x$, 95% CI 1,00–1,167 za nagib, 95% CI -0,009–0,030 za odsječak regresijskog pravca, P=0,14). Koeficijent korelacije je bio vrlo zadovoljavajući između ove dvije metode $r=0,95$.

G19 (Oral presentation)

Prealbumin method verification on Beckman Coulter AU680 analyzer

Snježana Hrabrić Vlah¹, Davor Valenčić¹, Lidija Bilić-Zulle^{1,2}

¹Clinical Department of Laboratory Diagnostics, Clinical Hospital Centre Rijeka, Rijeka, Croatia

²Department of Medical Informatics, Rijeka University School of Medicine, Rijeka, Croatia

Introduction: In clinical practice prealbumin is considered a good indicator of malnutrition as well as a negative acute phase reactant. The aim of this study was to evaluate reliability of prealbumin method on Beckman Coulter AU680 analyzer (Beckman Coulter, Brea, California, USA) before use in routine practice in the laboratory and examine the comparability of results with the Cobas c501 as a reference analyzer (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany).

Materials and Methods: We conducted a short verification of prealbumin analytical method on Beckman Coulter AU680 analyzer. Prealbumin concentrations were determined for 5 days in triplicate at two concentration levels (total of 30 measurements). It was used a commercial control samples ITA Control Sera L2 and L3. Verification includes: within-run imprecision (C_{wd}), between-run imprecisions (CV_{bd}) and bias (10 days, ITA Control Sera L2 and L3). Comparability of the methods were tested by measuring the patient samples (N=20) in a wide concentration range. Beckman Coulter AU680 was investigated analyzer, Cobas c501 was a reference analyzer.

Results: Results of the within-run imprecision for Beckman Coulter AU680 analyzer were: $C_{wd}=1.05\%$ (ITAL2) and $C_{wd}=2.12\%$ (ITAL3). Results of between-run imprecision were: $CV_{bd}=3.7\%$ (ITAL2) and $CV_{bd}=5.44\%$ (ITAL3). Bias was ITAL2=-0.7% and ITAL3=-4.1% for AU680 analyzer. The results of prealbumin concentrations were compared by Passing-Bablok regression analysis. Results of the regression analysis showed good compatibility ($y=0.0230435+1.043478x$, 95%CI 1.00-1.167 for the slope, 95%CI (-0.009)-0.030 for the intercept of the regression line, P=0.14). Correlation coefficient ($r=0.95$) was satisfactory between AU680 and reference analyzer.

Conclusion: Desirable analytical specification for within-run imprecision is 10.9%, between-day im-

Zaključak: Prema kriterijima temeljenim na biološkoj varijabilnosti poželjna specifikacija za preciznost u seriji je 10,9%, za preciznost iz dana u dan je 19,1%, mjerna istinitost je 5,5% (www.westgard.com/biological-variation-database). Verifikacija analitičke metode za mjerenje prealbumina na analizatoru AU680 pokazuje prihvatljivu preciznost, istinitost, dobru podudarnost te se može koristiti u rutinskom radu.

e-adresa: snjezana.hrabric.vlah@gmail.com

G20

Verifikacija metode mjerenja koncentracije bikarbonata u serumu na analizatoru Beckman Coulter AU680

Snježana Hrabrić Vlah¹, Lidija Bilić-Zulle^{1,2}

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

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

Uvod: Koncentracija bikarbonata mjera je poremećaja povezanih s promjenama acido-bazne ravnoteže u organizmu. Cilj je bio procijeniti analitičku pouzdanost enzimske metode mjerenja bikarbonata u serumu na analizatoru Beckman Coulter AU680 (Beckman Coulter, California, USA) prije upotrebe u rutinskom radu te ispitati usporedivost rezultata mjerenja bikarbonata u serumu na Beckman Coulter AU680 s rezultatima u punoj venskoj krvi izmjerenih potenciometrijskom metodom na referentnom ABS analizatoru Rapid 348 (Bayer Corporation, USA).

Materijali i metode: Verifikacija analitičke metode za bikarbonate učinjena je prema CLSI smjernici EP15-A2. Korišteni su komercijalni kontrolni uzorci BIO-RAD Liquid Assayed u dva koncentracijska nivoa u kojima je izmjeren bikarbonat tijekom 5 dana u triplikatu. Verifikacija obuhvaća: preciznost u seriji (KVp), međupreciznost iz dana u dan (KVm) i procjenu mjerne istinitosti (bias) određivanjem odstupanja izmjerene od očekivane vrijednosti (10 dana, BIO-RAD L1 i BIO-RAD L2). Paralelnim mjerenjem uzorka seruma i pune venske krvi (N=20) između referentnog Rapid 348 i ispitivanog AU680 analizatora ispitana je usporedivost.

precision is 19.1% and bias is 5.5%, who derived from biological variation (www.westgard.com/biological-variation-database). Prealbumin analytical method verification on AU680 analyzer shows acceptable imprecisions, bias, good compatibility and can be used in routine practice.

e-mail: snjezana.hrabric.vlah@gmail.com

G20

Verification of serum bicarbonate assay on Beckman Coulter AU680 analyzer

Snježana Hrabrić Vlah¹, Lidija Bilić-Zulle^{1,2}

¹Clinical Department of Laboratory Diagnostics, Clinical Hospital Centre Rijeka, Rijeka, Croatia

²Department of Medical Informatics, Rijeka University School of Medicine, Rijeka, Croatia

Introduction: Bicarbonate measurements are used in clinical practice as an indicator disorders associated with changes in body acid-base balance. The aim of this study was to evaluate reliability of bicarbonate analytical method on BC AU680 analyzer (Beckman Coulter, Brea, California, USA) before using in routine practice. We wanted to compare serum bicarbonate concentration measured on BC AU680 analyzer and results of whole blood bicarbonate concentration measured by potentiometric method on Rapid ABS 348 (Bayer Corporation, USA) as reference analyzer.

Materials and Methods: We performed short verification of bicarbonate analytical method according to CLSI guideline EP15-A2. We used commercial control samples BioRad Liquid Assayed in two concentration levels. Bicarbonate concentrations were measured for 5 days in triplicate. Verification includes: within-run imprecision (C_{wd}), between-run imprecisions (CV_{bd}) and bias (10 days, BioRad L1 and L2). Comparability was examined by measuring bicarbonate concentration in the serum samples and in the whole venous blood (N=20).

Results: Results of the within-run imprecision for Beckman Coulter AU680 analyzer were: $C_{wd}=3.44\%$

Rezultati: Preciznost u seriji za ispitivani analizator prikazana je kao $KV_p=3,44\%$ BIO-RAD L1, te $KV_p=2,65\%$ BIO-RAD L2 kontrolni materijal. Preciznost iz dana u dan prikazana je kao $KV_m=3,2\%$ (BIO-RAD L1), i $KV_m=3,18\%$ (BIO-RAD L2). Rezultati mjerne istinitosti (bias): $0,48\%$ (BIO-RAD L1) i $-4,81\%$ (BIO-RAD L2). Usporedivost bikarbonata među analizatorima ispitana je regresijskom analizom po Passing-Babloku i pokazuje zadovoljavajuću podudarnost ($y=-2,176042+1,104167x$, $95\%CI$ $0,8364-1,4651$ za nagib, $95\%CI$ $(-10,5023)-4,0600$ za odsječak, $P=0,980$). Koeficijent korelacije rezultata između ove dvije metode je bio $r=0,84$.

Zaključak: Poželjna specifikacija temeljena na biološkoj varijaciji za preciznost u seriji je 4% , iz dana u dan je $4,8\%$, mjerna istinitost je $1,56\%$ (www.westgard.com/biological-variation-database). Verifikacija analitičke metode za mjerenje koncentracije bikarbonata na ispitivanom analizatoru pokazuje prihvatljivu preciznost, dok procjena istinitosti u kontrolnom uzorku L2 odstupa od poželjne, rezultati su nešto niži od ciljane vrijednosti. Rezultati na Beckman Coulter AU680 analizatoru usporedivi su s rezultatima Rapid 348 ABS analizatora.

e-adresa: snjezana.hrabric.vlah@gmail.com

(BioRad L1), $C_{wd}=2,65\%$ (BioRad L2). Results of between-run imprecision were: $CV_{bd}=3,2\%$ (BioRad L1), $CV_{bd}=3,18\%$ (BioRad L2). Bias was $0,48\%$ (BioRad L1), $-4,81\%$ (BioRad L2) for BC AU680. The results of bicarbonate concentrations were compared by Passing-Bablok regression analysis. Results of the regression analysis were $y=-2,176042+1,104167x$, $95\%CI$ $0,8364-1,4651$ for the slope, $95\%CI$ $(-10,5023)-4,0600$ for the intercept, $P=0,98$. Correlation coefficient was $r=0,84$.

Conclusion: Desirable analytical specification for within-run imprecision is 4% , between-day imprecision is $4,8\%$ and bias is $1,56\%$, derived from biological variation (www.westgard.com/biological-variation-database). Bicarbonate analytical method verification on the BC AU680 showed acceptable imprecision. Bias was departed from desirable values; the results were slightly lower than the target value in control samples BioRad L2. Results of bicarbonate concentration showed good compatibility between these two methods.

e-mail: snjezana.hrabric.vlah@gmail.com

G21

Usporedba transkutane i fotometrijske metode za određivanje ukupnog bilirubina u zdrave novorođenčadi s klinički manifestnom žuticom

Sonja Perković¹, Marko Vukasović², Jelena Starčić¹, Andrea Radeljak¹

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

²Klinika za ženske bolesti i porode, Klinička bolnica Merkur, Zagreb, Hrvatska

Uvod: Određivanje ukupnog bilirubina u serumu novorođenčadi najčešće je izvođena pretraga i zlatni standard za procjenu neonatalne hiperbilirubinemije. Cilj rada bio je procjena usporedivosti rezultata ukupnog bilirubina određenog transkutanom i fotometrijskom metodom u svrhu kliničke primjene ne-

G21

Comparison of transcutaneous and photometric methods for the determination of total bilirubin in healthy newborns with clinically manifest jaundice

Sonja Perković¹, Marko Vukasović², Jelena Starčić¹, Andrea Radeljak¹

¹Department of Medical Biochemistry and Laboratory Medicine, Merkur University Hospital, Zagreb, Croatia

²Department of Gynecology and Obstetrics, Merkur University Hospital, Zagreb, Croatia

Introduction: Determination of total serum bilirubin (TSB) is one of the most frequently requested laboratory test in newborns and the gold standard for assessment of neonatal hyperbilirubinemia. The aim of this study was to evaluate the comparability of the transcutaneous bilirubin (TcB) and TSB results

invazivne metode u nadzoru neonatalne hiperbilirubinemije.

Ispitanici i metode: Istraživanje je obuhvatilo 66 parova rezultata kod 33 novorođenčadi porođajne dobi ≥ 35 tjedana, mlađe od 7 dana bez fototerapije i eksangvinotransfuzije, kojima je traženo određivanje koncentracije bilirubina u serumu. Koncentracija ukupnog bilirubina određena je fotometrijskom metodom s 3,5-diklorfenil-diazonium-tetrafluoroboratom, akreditiranom prema normi HRN-EN ISO 15189 i transkutano mjerenjem razlike optičke gustoće svjetla u plavom i zelenom području valnih dužina na tri mjerne točke prsa-čelo-prsa pomoću Draeger JM-103 (Draeger Medical Inc, Telford, PA) bilirubinometra. Usporedivost metoda testirana je Passing-Bablok regresijskim modelom i Bland-Altmanovom analizom.

Rezultati: Passing-Bablok analizom dobivene vrijednosti (s pripadajućim 95% intervalima pouzdanosti) odsječka na osi y 16,9091 (-33,8378 do 53,6455), te nagiba pravca 0,9091 (0,7455 do 1,351), upućuju da ne postoji statistički značajna konstantna ni proporcionalna pogreška između fotometrijske i transkutane metode. Bland-Altmanova analiza pokazala je da transkutani bilirubin podcjenjuje vrijednost ukupnog serumskog bilirubina: prosječna razlika s pripadajućim 95% intervalima pouzdanosti između fotometrijske i transkutane metode iznosila je 1,4 (-2,0 do 9,3) $\pm 11,4\%$. Premda je 90% rezultata unutar $\pm 1,96$ SD, raspon razlika od -20,9 (-25,7 do -16,1)% do 23,7 (18,9 do 28,5)% izvan je poželjnih bioloških kriterija za točnost, koji iznose 8,95%.

Zaključak: Naši rezultati ukazuju da postoji statistički značajna podudarnost transkutane i fotometrijske metode u mjerenju ukupnog bilirubina u terminske novorođenčadi, što upućuje na mogućnost kliničke primjene ove neinvazivne metode zajedno s drugim kliničkim pokazateljima kao pomoć u nadzoru hiperbilirubinemije u terminske novorođenčadi koji nisu primali transfuziju ili fototerapiju. S druge strane širok raspon razlika ukazuje na moguća klinički značajna odstupanja, koja je važno poznavati pri tumačenju dobivenih rezultata.

e-adresa: radeljak.andrea@gmail.com

for clinical application of noninvasive methods to supervise neonatal hyperbilirubinemia.

Subjects and Methods: The study included 66 pairs of results of the 33 newborns gestation age ≥ 35 weeks during the first week after birth, without phototherapy or exchange transfusion. The concentration of TSB was determined by photometric method with 3,5-dichlorophenyldiazonium tetrafluoro borate, accredited according to HRN EN ISO 15189. The level of TcB was determined as the difference in the optical density of light in the blue and green range of wavelengths at three measuring points forehead-sternum-forehead by Draeger JM-103 (Draeger Medical Inc., Telford, PA) bilirubinometer. Method comparability was assessed using the Passing-Bablok regression and Bland-Altman analysis.

Results: Passing-Bablok analysis of the values obtained (with corresponding 95% confidence intervals) y-axis intercept 16.9091 (-33.8378-53.6455), slope 0.9091 (0.7455-1.351), indicating that there is no statistically significant constant or proportional error between two methods. The Bland-Altman analysis demonstrated that transcutaneous bilirubin measurements tended to underestimate the value of TSB: mean difference from the corresponding 95% confidence intervals between photometric and transcutaneous methods was 1.4(-2.0-9.3) $\pm 11.4\%$. Although 90% of results within ± 1.96 SD, range difference of -20.9 (-25.7-(-16.1)) to 23.7% (18.9-28.5)% outside the desirable biological criteria for accuracy (8.95%).

Conclusion: Our results indicate that there is statistically significant correlation of transcutaneous and photometric methods in measuring total bilirubin in term neonates, suggesting a potential clinical application of this noninvasive methods in conjunction with other clinical indicators to assist in the control of neonatal hyperbilirubinemia. On the other hand, a wide range of difference indicates a possible clinically significant deviations, which is important to know when interpreting the results.

e-mail: radeljak.andrea@gmail.com

G22

Validacija metode tekućinske kromatografije visoke djelotvornosti za mjerenje antifungalnog lijeka vorikonazola u serumu

Mila Lovrić, Nada Božina, Dunja Rogić

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

Uvod: Vorikonazol je triazolni antifungalni lijek sa širokim spektrom djelovanja za invazivne gljivične infekcije. Metabolizira se u N-oksidi uglavnom preko izoenzima citokroma P450: CYP 3A4 i CYP 2C19. Zbog genetičkih polimorfizama CYP 2C19, nelinearne, saturacijske farmakokinetike i brojnih interakcija između lijekova standardne doze vorikonazola ne dovode do očekivane koncentracije i stoga se preporuča terapijsko praćenje. Cilj ovog rada bio je razviti i validirati metodu tekućinske kromatografije visoke djelotvornosti za terapijsko praćenje vorikonazola u serumu.

Materijali i metode: Uzorak seruma (250 µL) i kloramfenikol kao interni standard (25 µL) su prethodno obrađeni tekućinskom ekstrakcijom s etil acetat /heksanom pri lužnatom pH. Organski sloj se upari, a ostatak se otopi u 200 µL mobilne faze. Analiti se razdvajaju izokratno, primjenom reverzne-faze na koloni C18, 250 x 4,6 mm ID 5µm (Macherey-Nagel). Za razdvajanje je korištena mobilna faza fosfatni pufer / acetonitril / metanol (pH 4,6) i protok od 1,5 ml/min. Analiti su kvantificirani detektorom s nizom dioda na 254 nm ..

Rezultati: Sve kalibracijske krivulje pokazale su dobru linearnost ($r > 0,998$) u rasponu od 0,1-10 mg/L. Preciznost u seriji u dva nivoa koncentracija bila je 2,45% i 5,44%. Preciznost između serija bila je 7,56% i 6,11%. Točnost, izražena kao postotak pogreške, bila je u rasponu od 97,3-106,8%. Granica kvantifikacije je 0,038 mg/L, a granica detekcije 0,013 mg/L. Metoda je primijenjena za mjerenje vorikonazola u uzorcima seruma bolesnika.

Zaključak: Na temelju analitičkih parametara: linearnosti, preciznosti, točnosti, granice detekcije i kvantifikacije predstavljena metoda je pogodna za terapijsko praćenje lijeka i farmakokinetičke studije. Metoda pokazuje dobru specifičnost prema drugim propisanim lijekovima. Vorikonazol ima visok stupanj varijabilnosti i sugerira se terapijsko praćenje lijeka za poboljšanje učinkovitosti i smanjenje toksičnosti.

e-adresa: mila.lovric@kbc-zagreb.hr

G22

Validation of high performance liquid chromatography method for measuring of antifungal drug voriconazole in serum

Mila Lovrić, Nada Božina, Dunja Rogić

Department of Laboratory Diagnostics, University Hospital Centre Zagreb, Zagreb, Croatia

Introduction: Voriconazole (VRCZ) is a triazole antifungal agent with a broad spectrum for invasive fungal infection. VRCZ is mainly metabolized to the N-oxide predominantly by cytochrome P450: CYP 3A4 and CYP 2C19. Because of genetic polymorphisms of the cytochrome CYP2C19, voriconazole's nonlinear and saturable pharmacokinetics and numerous drug-drug interactions standard doses of the drug do not produce predictable trough concentrations and therefore therapeutic drug monitoring is highly recommended. The aim of this study was to develop and validate a high performance liquid chromatography method for voriconazole therapeutic drug monitoring.

Materials and Methods: Serum sample (250 µL) and chloramfenikol as internal standard (25 µL) pretreatment was based on liquid extraction with ethyl acetate/hexane at alkaline pH. Organic layer was then evaporated and residue desolved in 200 µL mobile phase. The separation was obtained on C18, 250 x 4.6 mm I.D. 5mm column (Macherey-Nagel) by isocratic reversed-phase chromatography. Compounds were eluted with phosphate buffer/acetonitrile/methanol mixture (pH 4.6) as the mobile phase, at flow rate of 1.5 ml/min. Analytes were monitored at diode array detector at 254 nm.

Results: All calibration curves showed good linearity ($r > 0.998$) through the range of 0.1-10 mg/L. The within-run precision in two concentration levels was 2.45 and 5.44%. Between-run precisions were 7.56% and 6.11%. Accuracy, expressed as percent error, was ranged from 97.3-106.8 %. The limit of quantitation was 0.038 mg/L and limit of detection 0.013 mg/L. The method has been applied to monitor voriconazole in serum of patients.

Conclusion: Based on analytical parameters linearity, precision, accuracy, limit of detection and quantitation presented method is suitable for therapeutic drug monitoring and pharmacokinetic studies. The method shows good specificity with other prescribed drugs. Voriconazole has a high degree of interpatient variability and some data are suggestive that therapeutic drug monitoring may improve voriconazole efficacy and toxicity.

e-mail: mila.lovric@kbc-zagreb.hr

H – Laboratorijska hematologija i koagulacija

H01

Ispitivanje primarne hemostaze kod bolesnika s policitemijom rubra verom i sekundarnom eritrocitozom uporabom PFA 100 analizatora

Branka Pauković Sekulić¹, Leida Tandara¹, Anuška Trlaja²

¹Zavod za medicinsko laboratorijsku dijagnostiku, Klinički bolnički centar Split, Split, Hrvatska

²Centar za transfuzijsku medicinu, Klinički bolnički centar Split, Split, Hrvatska

Uvod: Ukupan volumen mase eritrocita povećan je kod mijeloproliferativne bolesti policitemije rubra vere (PRV) i sekundarne eritrocitoze koja nastaje zbog fiziološki ili patološki povećanog lučenja eritropoetina. Klinički tijek obje bolesti praćen je trombozom zbog povećane viskoznosti krvi. U liječenju primjenjuju se niske doze aspirina. Krvarenje kod PRV je rjeđe i češće pogađa bolesnike s visokim brojem trombocita. Očituje se kao kožno i gastrointestinalno krvarenje. Kod sekundarne eritrocitoze krvarenja se u pravilu ne javljaju. Cilj ispitivanja je bio procijeniti funkciju trombocita određivanjem vremena nastanka trombocitnog ugruška (CT) PFA-100 analizatorom (Siemens Healthcare Diagnostics) i usporediti ih prema utvrđenim referentnim intervalima.

Ispitanici i metode: Obrađeno je 36 bolesnika: 18 s dijagnozom PRV (7 Ž i 11 M starosti 55-87 godina) i 18 s dijagnozom sekundarna eritrocitoza (1 Ž i 17 M starosti 32-87 godina). Svim bolesnicima određene su pretraga PCR na mutaciju V617F u genu za JAK-2 i parametri krvne slike na hematološkom brojaču Advia 2120 (Siemens Healthcare Diagnostics). CT je određeno u prisutnosti kolagena i adrenalina (CEPI-CT) te kolagena i ADP (CADP-CT) u uzorcima pune citratne krvi (0,105 M Na-citrat) i uspoređeni s utvrđenim referentnim intervalima: (CEPI-CT: 85-165 s); (CADP-CT: 71-118 s). Rezultati su obrađeni pomoću statističkog programa MedCalc 14.8.1. Za usporedbu rezultata upotrijebljen je Mann-Whitney U-test. Statistički značajnom razlikom smatrala se vrijednost $P < 0,05$.

Rezultati: Vrijednosti za CT su bile značajno više u bolesnika s PRV (CEPI-CT: medijan 285,5 s; granice

H – Laboratory hematology and coagulation

H01

Testing of primary haemostasis at patients with polycythaemia rubra vera and secondary erythrocytosis by PFA 100 analyzer

Branka Pauković Sekulić¹, Leida Tandara¹, Anuška Trlaja²

¹Department of Laboratory Diagnostics, Clinical Hospital Centre Split, Split, Croatia

²Clinical Centre of Transfusion Medicine, Clinical Hospital Centre Split, Split, Croatia

Introduction: RBC mass is elevated in polycythaemia rubra vera (PRV) and in secondary erythrocytosis (SE), associated with hypoxia or increased erythropoietin production. Both diseases have been accompanied by thrombosis due to increased viscosity of blood. Low-dose aspirin are applied in the treatment of blood hyperviscosity. Bleeding risk at PRV is rare and mostly affects patients with high platelets count. It manifests itself like skin and gastrointestinal bleeding. At SE bleedings do not appear. Aim of examination was to estimate the platelet function by determining closure time (CT) by PFA 100 analyzer (Siemens Healthcare Diagnostics) and compare them with referent intervals.

Subjects and Methods: 36 patients were examined: 18 with PRV (7 W and 11 M; 55-87 years) and 18 with SE (1 W and 17 M; 32-79 years). For all patients PCR for the mutation V617F in the JAK-2 gene and CBC counts on the Advia 2120 (Siemens) have been performed. CT was determined in the presence of the collagen and adrenaline (CEPI-CT) as well as collagen and ADP (CADP-CT) in samples of citrated whole blood (0.105 M Na-citrate) and were compared with referential intervals: (CEPI-CT: 85-165 s); (CADP-CT: 71-118 s). Statistical analysis was made by MedCalc 14.8.1 software. Mann-Whitney U-test ($P < 0.05$) was used for comparison of the results.

Results: Values of the CT were significantly higher in the patients with PRV (CEPI-CT: median 285,5 s; 95%CI: 168.6-300 s; $P = 0.020$; CADP-CT: median 128 s; 95%CI: 122.6-167 s; $P = 0.0025$) than in the patients with the SE (CEPI-CT: median 148

pouzdanosti od 95%:168,6-300 s; CADP-CT: medijan 128 s; granice pouzdanosti od 95% 122,6-167 s;) nego u bolesnika sa sekundarnom eritrocitozom (CEPI-CT: medijan 148 s; granice pouzdanosti od 95%: 120,8-224,7 s; CADP-CT : medijan 100,5 s; granice pouzdanosti 87-111,8 s).

Zaključak: pretraga se može koristiti za praćenje funkcije trombocita u bolesnika s PRV kod pojave krvarenja zbog same bolesti ili terapije. Rezultati kod sekundarne eritrocitoze su u skladu s rezultatima iz literature.

e-adresa: branka.paukovic.sekulic@gmail.com

H02 (Usmeno izlaganje)

Jesu li trombocitne konstante korisne u procjeni trombopoetske aktivnosti koštane srži kod neonatusa sa naglim smanjenjem broja trombocita?

Ana Mlinarić, Gordana Fressl Juroš, Ivana Rako, Dunja Rogić

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

Uvod: Nezrela trombocitna frakcija (IPF), srednji volumen trombocita (MPV), omjer velikih trombocita (P-LCR) i distribucija veličine trombocita (PDW) su trombocitne konstante (TK) koje se rutinski mjere kao istraživački parametri pri analizi kompletne krvne slike. Istraživali smo korisnost TK za procjenu trombopoetske aktivnosti koštane srži kod neonatusa nakon naglog smanjenja broja trombocita i testirali povećavaju li se vrijednosti TK u adekvatnom trombopoetskom odgovoru koštane srži.

Ispitanici i metode: 32 neonatusa na odjelu neonatološke intenzivne njege, praćena su tijekom dva mjeseca. Krv je uzorkovana u K₃-EDTA epruvete i analizirana na Sysmex XE-5000 analizatoru. Prema kriteriju biološke varijabilnosti broja trombocita, smanjenje broja trombocita veće od 20% smatralo se značajnim. Kod neonatusa sa uočenim značajnim padom broja trombocita testirali smo razliku u TK prije i poslije tog događaja parnim t-testom. Kod neonatusa bez smanjenja broja trombocita, na razlike smo testirali TK dva konsektivna uzorka. Vrijednost P<0,01 je smatrana statistički značajnom.

s; 95%CI:120.8-224.7 s; CADP-CT: median 100.5 s; 95%CI:87-111.8 s).

Conclusion: The comparison of the results confirmed the clinical utility of this test in the assessment of platelets function in the patients with PRV at the appearance of bleeding because of the disease or therapy. Results at SE accord with results from the literature.

e-mail: branka.paukovic.sekulic@gmail.com

H02 (Oral presentation)

Are platelet indices valuable in assessment of bone marrow thrombopoietic activity in neonates with sudden decrease in platelet count?

Ana Mlinarić, Gordana Fressl Juroš, Ivana Rako, Dunja Rogić

Department of Laboratory Diagnostics, University Hospital Centre Zagreb, Zagreb, Croatia

Introduction: Immature platelet fraction (IPF), mean platelet volume (MPV), platelet large cell ratio (P-LCR) and platelet distribution width (PDW) are platelet indices (PIs) measured as research parameters in complete blood cell analysis. We investigated if PIs could be useful in assessing bone marrow thrombopoietic activity in neonates following sudden decrease in platelet count (PC) and tested the hypothesis that PIs increase with adequate bone marrow thrombopoietic response.

Subjects and Methods: 32 neonates admitted to neonatal intensive care unit were monitored during 2 months. Blood was sampled in K₃-EDTA tubes and analysed on Sysmex XE-5000 analyser. Based on platelet biological variability criteria, PC decrease greater than 20% was considered significant. In neonates with observed PC decrease, we tested PIs before and after this event for differences, using paired samples t-test. Otherwise, in neonates without PC decrease, we tested PIs of two consecutive samples for differences. The P<0.01 was considered statistically significant.

Rezultati: Uočili smo značajno smanjenje broja trombocita kod 16 neonatusa kod kojih je pronađen statistički značajan porast u IPF (3,1 i 5,2; $P=0,004$), MPV (10,6 i 11,2; $P=0,001$) i P-LCR vrijednostima (29,7 i 34,4; $P<0,001$), prije i nakon smanjenja broja trombocita. Kod 16 neonatusa bez značajnog pada broja trombocita nije bilo statistički značajne promjene u IPF ($P=0,189$), MPV ($P=0,021$) i P-LCR ($P=0,020$) vrijednostima. Nije bilo značajne razlike u PDW vrijednostima kod obje skupine neonatusa.

Zaključak: Povećane vrijednosti MPV, P-LCR i IPF upućuju na prisutnost većih i mlađih oblika trombocita kod neonatusa nakon značajnog smanjenja broja trombocita. Kod neonatusa bez smanjenja broja trombocita nije bilo razlika u vrijednostima TK, što ukazuje kako dodatna aktivacija koštane srži nije bila prisutna. Vrijednosti IPF, MPV i P-LCR mogle bi se koristiti kao pokazatelji u procjeni trombopoetskog odgovora koštane srži u slučajevima naglog smanjenja broja trombocita.

e-adresa: ana.mlinaric@yahoo.com

H03

Analitička procjena koagulacijskih reagensa Sclavo na poluautomatskom i automatiziranim koagulometrima

Vladimira Rimac¹, Désirée Coen Herak¹, Sanela Šimić Vojak², Vanja Radišić Biljak³, Dunja Rogić¹

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

²Odjel za laboratorijsku dijagnostiku, Opća bolnica Požega, Požega, Hrvatska

³Klinički zavod za medicinsku biokemiju i laboratorijsku medicinu, Klinička bolnica Merkur, Zagreb, Hrvatska

Uvod: Prije primjene novih reagensa u svakodnevnom radu potrebno je, prema dobroj laboratorijskoj praksi, napraviti njihovu analitičku procjenu. Cilj rada bio je verifikacija koagulacijskih reagensa Sclavo Diagnostics International S.r.l.(Sovicille, Italija) za određivanje protrombinskog vremena (PV), aktiviranog parcijalnog tromboplastinskog vremena (APTV), funkcionalne koncentracije fibrinogena (Fbg) i aktivnosti faktora V (FV).

Results: We observed significant PC decrease in 16 neonates and found statistically significant increase in IPF (3.1 vs 5.2; $P=0.004$), MPV (10.6 vs 11.2; $P=0.001$) and P-LCR (29.7 vs 34.4; $P<0.001$) values before and after PC decrease, respectively. In 16 neonates without significant PC decrease, we found no statistically significant difference in IPF ($P=0.189$), MPV ($P=0.021$) and P-LCR ($P=0.020$) values. There was no significant difference in PDW values in both neonate groups.

Conclusion: Increased MPV, P-LCR and IPF indicate platelets were larger and more immature in neonates following significant PC decrease. Neonates without PC decrease exhibited no significant difference in PIs, indicating no additional activation of bone marrow was present. These findings suggest IPF, MPV and P-LCR are useful in assessing bone marrow thrombopoietic response following sudden decrease in PC.

e-mail: ana.mlinaric@yahoo.com

H03

Analytical estimation of Sclavo Diagnostics coagulation reagents on semi-automatic and automated coagulometers

Vladimira Rimac¹, Désirée Coen Herak¹, Sanela Šimić Vojak², Vanja Radišić Biljak³, Dunja Rogić¹

¹Department of Laboratory Diagnostics, University Hospital Centre Zagreb, Zagreb, Croatia

²Department of Laboratory Diagnostics, General hospital Požega, Požega, Croatia

³Department of Medical Biochemistry and Laboratory Medicine, Merkur University Hospital, Zagreb, Croatia

Introduction: According to good laboratory practice, before applying new reagents in routine work, an analytical assessment is necessary. The aim of this study was the verification of Sclavo Diagnostics International Srl (Sovicille, Italy) coagulation reagents for determination of prothrombin time (PT), activated partial thromboplastin time (aPTT), functional concentration of fibrinogen (FBG) and the activity of factor V (FV).

Materijali i metode: Verifikacija Sclavo reagensa PT Kit (PV), aPTT-S Kit (APTV), Fibrinogen Kit (Fbg) i Factor V Kit (FV) provedena je na automatiziranim koagulometrima BCS XP/BCT (Siemens Healthcare Diagnostics, Njemačka) i poluautomatskom koagulometru KC-4A (Amelung, Njemačka). Nepreciznost u seriji (N=10) ispitana je *poolom* plazmi s vrijednostima u normalnom (razina N) i patološkom području (razina P), a nepreciznost iz dana u dan uporabom kontrolnih plazmi Sclavo Normal i Abnormal Control Plasma Kit 10 dana u duplikatu. Za procjenu usporedivosti s drugom metodom analizirano je 30 uzoraka plazmi bolesnika nakon analize na referentnim analizatorima BCS XP/ BCT uporabom reagensa Siemens Healthcare Diagnostics. Rezultati nepreciznosti izraženi su kao srednja vrijednost, standarda devijacija i koeficijent varijacije (CV), dok je usporedba rezultata dobivenih s referentnim reagensima učinjena regresijskom analizom po Passingu i Babloku.

Rezultati: Za nepreciznosti u seriji dobiveni su CV-ovi <5% za sve ispitane pretrage. Za nepreciznosti iz dana u dan najmanji CV-ovi (<2%) dobiveni su na oba sustava za PV (s) za obje koncentracijske razine, dok su najviši CV-ovi (<12%) dobiveni za FV za razinu N. Usporedbom rezultata dobivenih s referentnim reagensima koeficijenti korelacije iznosili su od 0,789 (FV) do 0,967 (Fbg) na KC-4A, te od 0,870 (FV, BCT) do 0,978 (PV-INR, BCS XP). Usporedbom dobivenih rezultata na koagulometrima KC-4A i BCS XP/BCT uporabom reagensa Sclavo Diagnostics koeficijenti korelacije su iznosili od 0,904 za FV do 0,983 za APTV.

Zaključak: Ispitani koagulacijski reagensi Sclavo Diagnostics pokazali su zadovoljavajuće analitičke osobine te su pogodni za primjenu u svakodnevnom radu na poluautomatskom i automatiziranim koagulometrima.

e-adresa: kutnjakvl@gmail.com

Materials and Methods: The verification of Sclavo reagent PT Kit (PT), aPTT S kit (APTT), Fibrinogen Kit (FBG) and Factor V Kit (FV) was performed on automated coagulometers BCS XP/BCT (Siemens Healthcare Diagnostics, Germany) and semi-automatic coagulometer KC-4A (Amelung, Germany). Within-run imprecision (N=10) was examined with plasma pools in the normal (N levels) and pathological ranges (level P) and between-run imprecision (10 days in duplicate) with control plasma Sclavo Normal and Abnormal Control Plasma kit. For method comparison 30 samples of patient plasma were analyzed after analysis on reference analyzers BCS XP/BCT using Siemens Healthcare Diagnostics reagents. Inaccuracy results were expressed as mean, standard deviation and coefficient of variation (CV). Passing-Bablok regression analysis was used to compare results with reference reagents.

Results: Within-run imprecision CVs were <5% for all tests. For between-run imprecision the smallest CVs (<2%) were obtained on both coagulometers for the PV (s) in both concentration levels. The highest CVs (<12%) were obtained for the FV (level N). The correlation coefficients obtained with reference reagents ranged from 0.789 (FV) to 0.967 (FBG) on the KC-4A, and from 0.870 (FV, BCT) to 0.978 (PT-INR, BCS XP). By comparing the results obtained on coagulometers KC-4A and BCS XP/BCT using Sclavo Diagnostics reagents, correlation coefficients ranged from 0.904 for the FV to 0.983 for the APTT.

Conclusion: The tested Sclavo Diagnostics reagents showed satisfactory analytical properties and are suitable for use in routine work on semi-automatic and automatic coagulometers.

e-mail: kutnjakvl@gmail.com

H04

Crvena krvna slika donešene novorođenčadi

Ksenija Paradinović, Blaženka Dobrošević, Tara Rolić, Marija Milić, Vatroslav Šerić

Odjel za kliničku laboratorijsku dijagnostiku, Klinički bolnički centar Osijek, Osijek, Hrvatska

Uvod: Pedijatrijska populacija, najosjetljivija dobna skupina za uzorkovanje, nije u potpunosti pokrivena referentnim intervalima. Za ovu populaciju nemamo vlastite referentne intervale te je preporučena primjena referentnih intervala prema literaturnim izvorima, pri čemu je temeljni kriterij sukladnost analitičkih metoda s revidiranim preporučenim metodama Hrvatske komore medicinskih biokemičara.

Cilj je odrediti koncentracijske parametre crvene krvne slike donešene novorođenčadi, te ih usporediti s preporučenim referentnim intervalima.

Materijali i metode: Uzorci kapilarne pune krvi donešene novorođenčadi (347 uzoraka) u dobi od jednog do pet dana. Određeni koncentracijski i računski parametri crvene krvne slike na hematološkom brojaču Sysmex XE2100. Izračun prosječnih dobivenih vrijednosti i usporedba s harmonizacijskim referentnim intervalom.

Rezultati: Novorođena djeca u prvom tjednu života imaju prosječnu vrijednost eritrocita = $5,82 \times 10^{12}/L$, hemoglobina = 210 g/L, hematokrita = 0,592 L/L, MCV = 101,9 fL, MCH = 37,6 pg, MCHC = 359 g/L.

Zaključak: Vrijednosti crvene krvne slike novorođenčadi Osijeka i okolice dijelom pokazuju više vrijednosti predloženog referentnog raspona za dob od 1-14 dana starosti. Predloženi raspon je dob značajnih fizioloških promjena u koncentracijama crvene krvne slike. Svrshodno bi bilo izraditi vlastite referentne intervale, te raspon dobi podijeliti.

e-adresa: ksenija.paradinovic@gmail.com

H04

Red blood count of the term newborns

Ksenija Paradinović, Blaženka Dobrošević, Tara Rolić, Marija Milić, Vatroslav Šerić

Department of Clinical Laboratory Diagnostics, Clinical Hospital Centre Osijek, Osijek, Croatia

Introduction: Pediatric population, the most sensitive age group for the sample, is not fully covered by the reference intervals. We do not have our own reference intervals for this population, so it is recommended to use reference intervals in the literature, where the main criterion is compliance of revised analytical methods with recommended methods of the Croatian Chamber of Medical Biochemists.

The goal is to determine the concentration of red blood cells parameters of term newborns, and compare them with the recommended reference intervals.

Materials and Methods: Samples of capillary whole blood of term newborns (347 samples) at the age of one to five days. The concentration and the calculated parameters of red blood cells in the blood counter Sysmex XE2100. The calculation of the average values obtained and comparison with the Harmonization reference interval.

Results: Newborns in the first week of life have an average value of red cells = $5.82 \times 10^{12}/L$, Hb = 210 g/L, hematocrit = 0.592 L/L, MCV = 101.9 fL, MCH = 37.6 pg, MCHC = 359 g/L.

Conclusion: The values of red blood cells of newborns in Osijek and the surrounding area partly show increased value of the proposed reference range in age from 1-14 days. The proposed range is a period of significant physiological changes in the concentration of red blood cells. It would be useful to create own reference intervals and to divide range.

e-mail: ksenija.paradinovic@gmail.com

H05

Validacija koagulacijskih sustava STA Compact Max i STA-R Evolution

Ivana Baršić¹, Snježana Semenski², Vesna Šupak Smolčić³, Dragana Antončić³, Darka Stošić⁴, Désirée Coen Herak¹, Dunja Rogić¹

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

²Medicinsko biokemijski laboratorij, Opća bolnica Zabok i bolnica hrvatskih veterana, Zabok, Hrvatska

³Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku, Klinički bolnički centar Rijeka, Rijeka, Hrvatska

⁴Biomedica dijagnostika d.o.o., Zagreb, Hrvatska

Uvod: Cilj rada bio je provesti validaciju koagulometara STA Compact Max i STA-R Evolution i pripadajućih reagensa (Diagnostica Stago, Francuska) s naglaskom na procjenu metoda za određivanje rutinskih i specijalnih koagulacijskih pretraga, te usporedba s postojećim koagulacijskim sustavima.

Materijali i metode: Validacija je provedena istodobno na oba koagulometra prema Stago protokolu System Method Validation PQ for STA® System za koagulacijske pretrage: PV, APTV, D-dimere, antitrombin, PC, FVII, FVIII i slobodni PS:Ag. Ispitana je nepreciznost u seriji i nepreciznost iz dana u dan (uporabom komercijalnih kontrolnih plazmi i poolova plazmi bolesnika u normalnom i patološkom području), netočnost, prijenos uzoraka (APTV), usporedba s referentnim metodama na uređajima BCS XP/BCT i miniVidas analizom uzoraka plazmi bolesnika (N=33-127), linearnost (D-dimeri, slobodni PS:Ag) te provjera referentnih intervala (≥ 20 uzoraka zdravih dobrovoljaca). Rezultati validacije statistički su obrađeni uporabom programa MedCalc (verzija 9.3.2.0) i analizirani prema kriterijima prihvatljivosti definiranim u dokumentima Stago quality documents SAV 4012 i 4013.

Rezultati: Za nepreciznost u seriji koeficijenti varijacije (KV) za sve pretrage bili su unutar definiranih kriterija osim za FVIII na STA-R Evolution (10,1% u normalnom i 8,6% u patološkom području). Za D-dimere dobiveni su nešto viši KV (STA-R Evolution:15,1%, STA Compact Max: 7,9%), ali su standardne devijacije (0,02-0,07 mg/L FEU) bile unutar definiranih kriterija. Za nepreciznost iz dana u dan za sve pretrage dobiveni KV bili su unutar definiranih kriterija. Usporedbom rezultata s referentnim metodama regre-

H05

Validation of Coagulation Systems STA Compact Max and STA-R Evolution

Ivana Baršić¹, Snježana Semenski², Vesna Šupak Smolčić³, Dragana Antončić³, Darka Stošić⁴, Désirée Coen Herak¹, Dunja Rogić¹

¹Department of Laboratory Diagnostics, University Hospital Centre Zagreb, Zagreb, Croatia

²Medical Biochemistry Laboratory, General Hospital Zabok and Hospital of Croatian Veterans, Zabok, Croatia

³Clinical Department of Laboratory Diagnostics, Clinical Hospital Centre Rijeka, Rijeka, Croatia

⁴Biomedica dijagnostika d.o.o., Zagreb, Croatia

Introduction: The aim of this study was to perform the validation of coagulation systems STA Compact Max and STA-R Evolution (Diagnostica Stago, France) with emphasis on method performance for routine and special coagulation analyses and to compare them with routine coagulation systems.

Materials and Methods: Validation was performed at the same time on both analyzers according to Stago protocol System Method Validation PQ for STA® System for PT, APTT, D-dimer, antithrombin, PC, FVII, FVIII and free PS:Ag. The study included the determination of within-run and between-run imprecision using commercial control samples and patients plasma pools with normal and pathological values, inaccuracy, carry-over (APTT), method comparisons with routine analyzers BCS XP/BCT and miniVidas using patient plasma samples (N=33-127), linearity (D-dimer, free PS:Ag) and verification of reference interval (≥ 20 samples from healthy individuals). Results were statistically analyzed with MedCalc software (version 9.3.2.0) and estimated according to specification criteria from Stago quality documents SAV 4012 and 4013.

Results: For all analytes, CVs met the required specifications for within-run imprecision except for FVIII on STA-R Evolution analyzer (10.1% for normal and 8.6% for pathological values). Although higher than expected CVs for D-dimer were obtained (STA-R Evolution: 15.1%, STA Compact Max: 7.9%), SDs (0.02-0.07 mg/L FEU) were within required specifications. Between-run CVs for all analytes fulfilled specific requirements. Passing-Bablok regression analysis yielded correlation coefficients ranging from 0.811 (APTT) to 0.988 (PC) on STA-R Evolution and from

sijskom analizom po Passing-Babloku, dobiveni su koeficijenti korelacije u rasponu od 0,811 (APTV) do 0,988 (PC) na STA-R Evolution, te od 0,827 (APTV) do 0,988 (PC) na STA Compact Max. Potvrđena je linearnost mjernog područja navedena od proizvođača za D-dimere i slobodni PS:Ag. Provjera referentnih intervala ukazuje kako se mogu prihvatiti referentni intervali predloženi od proizvođača.

Zaključak: Dobiveni rezultati ukazuju kako su oba validirana sustava proizvođača Diagnostica Stago pogodni za uporabu u rutinskom radu.

e-adresa: ibarsic@kbc-zagreb.hr

0.827 (APTV) to 0.988 (PC) on STA Compact Max. The linearity stated by manufacturer for D-dimer and free PS:Ag was confirmed. Assessment of reference intervals met the defined criteria confirming that they are applicable for routine work.

Conclusion: The obtained results from validation study show optimal analytical performance of both coagulation systems and therefore can be implemented in routine practice.

e-mail: ibarsic@kbc-zagreb.hr

I – Predanalitička i poslijeanalitička faza laboratorijskog rada

I01

Slučaj neobičnog plutanja gela u epruvetama uzoraka krvi triju pacijenata na hemodijalizi s intradijaliznom hipotenzijom

Meltem Demir¹, Sebahat Ozdem²

¹Biochemistry Laboratory, Medicalpark Hospital, Antalya, Turkey

²Department of Medical Biochemistry, Akdeniz University Medical Faculty, Antalya, Turkey.

Uvod: Epruvete s gelom često se koriste za uzorkovanje venske krvi u mnogim kliničkim laboratorijima budući predstavljaju jednostavan i učinkovit način za odjeljivanje krvnih stanica od seruma. Prikazujemo tri slučaja neobičnog plutanja gela u epruvetama nakon centrifugiranja.

Materijali i metode: Uzorci krvi 60-godišnjeg muškarca s terminalnim bubrežnim zatajenjem prikupljeni su u epruvete s gelom BD SST II Advance Tube (Becton Dickinson, NJ, USA) u Jedinici za hemodijalizu bolnice Medicalpark po završetku hemodijalize pacijenta. Nakon potpunog zgrušavanja, uzorak je centrifugiran 10 minuta na 3000 okretaja/min.

Rezultati: Nakon postavljanja uzorka na analizator, predanalitička pogreška dovela je do prekida analize uzoraka i odgode u izvještavanju nalaza. Analizom događaja utvrđeno je savijanje igle za uzorkovanje na analizatoru zbog zaglavljivanja igle u gelu koji se

I – Preanalytical and postanalytical phase of laboratory work

I01

Abnormal flotation of separator gel in blood test tubes in three hemodialysis patients with intradialytic hypotension

Meltem Demir¹, Sebahat Ozdem²

¹Biochemistry Laboratory, Medicalpark Hospital, Antalya, Turkey

²Department of Medical Biochemistry, Akdeniz University Medical Faculty, Antalya, Turkey.

Introduction: Blood sampling tubes containing separator gel are widely used in many clinical biochemistry laboratories since they provide an easy and effective way of separating blood cells and serum. We present 3 cases with abnormal flotation of separator gel in test tubes after centrifugation.

Material and Methods: The blood sample obtained in Hemodialysis Unit of Medicalpark Hospital from a 60 years old male patient with end stage renal disease (ESRD) following completion of hemodialysis (HD) was drained into BD SST II Advance Tube (Becton Dickinson, NJ, USA) containing separator gel. Following completion of coagulation, sample was centrifuged at 3000 rpm for 10 min.

Results: Following placement of test tube in auto-analyzer, a preanalytical error caused discontinuation of the measurements and delay in delivery of lab results. A careful analysis revealed bending and

neuobičajeno nalazio na vrhu epruvete s uzorkom. Tjedan dana i dva mjeseca nakon ovog događaja, isti je slučaj uočen u uzorcima krvi uzetih nakon hemodijalize kod druga dva pacijenta s terminalnom bubrežnom bolesti. Intradijalizna hipotenzija i visoka koncentracija proteina (>162,8 g/L) u uzorcima nakon hemodijalize nađena je u slučaju sva tri pacijenta. Dodatkom goveđeg albumina u uzorke seruma zdravih dobrovoljaca postigli smo koncentraciju proteina veću od 161,6 g/L što je dovelo do plutanja gela na vrhu epruvete slično onome uočenom kod pacijenata.

Zaključak: Visoka koncentracija proteina vjerojatno uzrokovana intradijaliznom hipotenzijom zbog dehidracije uzorkovala je neobično plutanje gela na vrhu epruvete s uzorcima krvi. Opisani slučajevi upućuju na važnost vizualnog pregleda epruveta uzoraka krvi s visokom koncentracijom proteina uz istovremeno smanjenje volumena krvi kako bi se izbjegli nepoželjni učinci na rezultate analize i nepotrebni troškovi za laboratorij.

e-adresa: meldemir52@gmail.com

obstruction of the probe of autoanalyzer due to stuck in separator gel that was abnormally floated on to the top of tube. One week and 2 months after the first case, abnormal floating of separator gel was observed in post-HD blood samples of two other patients with ESRD. Intradialytic hypotension and high protein load (>162.8 g/L) of post-HD blood samples were the common findings in all 3 cases. Raising the protein content of blood samples from healthy volunteers above 161.6 g/L by adding bovine albumin caused abnormal flotation of separator gel similar to those we observed in our cases.

Conclusion: Our findings suggested that increased protein load probably caused by intradialytic hypotension due to dehydration induced the observed abnormal flotation of separator gel in our cases. Present findings emphasize the importance of visual control of test tubes for abnormal flotation of separator gel in blood samples with high protein content especially in the presence of accompanying volume loss to avoid unfavorable effects on test results and laboratory costs.

e-mail: meldemir52@gmail.com

I02 (Usmeno izlaganje)

Ionizirani kalcij u serumu - utjecaj vremena od uzorkovanja do centrifugiranja uzorka i vremena od centrifugiranja do izrade analize

Antonija Perović, Marina Njire Bratičević, Diana Ljubimir

Odjel za biokemijsku i hematološku laboratorijsku dijagnostiku, Opća bolnica Dubrovnik, Dubrovnik, Hrvatska

Uvod: Nakon verifikacije seruma kao jednakovrijednog uzorka arterijskoj krvi za određivanje ioniziranog kalcija (iCa), ovim radom željeli smo ispitati utjecaj vremena od uzorkovanja do centrifugiranja uzorka te vremena od centrifugiranja do izrade analize na vrijednosti iCa u serumu, kako bismo procijenili hitnost izrade analize zbog eventualne nestabilnosti uzorka.

Ispitanici i metode: Uzorci venske krvi prikupljeni su u Odjelu za biokemijsku i hematološku laboratorijsku dijagnostiku Opće bolnice Dubrovnik u spremnike bez antikoagulansa i s gelom. Utjecaj vremen-

I02 (Oral presentation)

Ionized calcium in serum – the influence of time periods from sampling to centrifugation, and from centrifugation until analysis

Antonija Perović, Marina Njire Bratičević, Diana Ljubimir

Department of Biochemical and Hematological Laboratory Diagnostics, General Hospital Dubrovnik, Dubrovnik, Croatia

Introduction: After verification of serum as sample equivalent to arterial blood for ionized calcium (iCa) measurement, aim of our study was to evaluate the influence of time periods from sampling to centrifugation, and from centrifugation until analysis on the iCa in serum, in order to assess the urgency of analysis due to possible sample instability.

Subjects and Methods: The influence of time periods from sampling to centrifugation was examined on 10 subjects; 3 tubes of blood were collected and centrifuged 15 (Tube 1), 30 (Tube 2) and 60 minutes

na od uzorkovanja do centrifugiranja ispitan je na 10 ispitanika kojima su uzeta po 3 spremnika krvi te centrifugirana 15 (1. spremnik), 30 (2. spremnik) i 60 minuta (3. spremnik) nakon uzorkovanja i analizirana u periodu od 10 minuta nakon centrifugiranja. Utjecaj vremena izrade analize nakon centrifugiranja ispitan je na 15 ispitanika kojima su uzeta po 3 spremnika krvi te centrifugirana 30 minuta nakon uzorkovanja i analizirana u sljedećim vremenima nakon centrifugiranja: 0-10 minuta (A spremnik), 30-40 minuta (B spremnik) i 90-100 minuta (C spremnik). Svi spremnici su bili napunjeni do nominalnog volumena, centrifugirani prema preporuci proizvođača, bez regulacije temperature i ostavljeni na sobnoj temperaturi do analize. Mjerenja su izvršena potenciometrijskom metodom na uređajima RapidLab 348 (Siemens, Suffolk, UK). Dobivene vrijednosti su uspoređene s dozvoljenim postotkom odstupanja prema kriterijima RiliBÄK-a (odstupanje <7,5%).

Rezultati: Vrijeme od uzorkovanja do centrifugiranja: odstupanja iCa prema vrijednostima u 1. spremniku su bila manja od postavljenih kriterija; srednji bias (raspon); 1,25% (-3,1-3,13) za 2. spremnik; 1,12% (-1,55-3,91) za 3. spremnik. Vrijeme izrade analize nakon centrifugiranja: odstupanja iCa prema vrijednostima u A spremniku bila su manja od postavljenih kriterija; srednji bias (raspon); 2,38% (-4,58-2,34) za B spremnik; 2,79% (-4,72-4,80) za C spremnik.

Zaključak: Vrijeme od uzorkovanja do centrifugiranja uzorka (do 60 minuta) i vrijeme od centrifugiranja do izrade analize (do 90 minuta) nije utjecalo na stabilnost iCa u serumu.

e-adresa: perovic.antonija@gmail.com

103

Utjecaj hemolize na elektroforezu serumskih proteina

Božica Sokolić, Adrijana Dorotić, Renata Laškaj, Gabrijela Smoljkić, Marija Mijakić

Odjel za medicinsku biokemiju, hematologiju i koagulaciju, Klinika za infektivne bolesti „Dr. Fran Mihaljević“, Zagreb, Hrvatska

Uvod: Prema preporukama proizvođača, hemolizirani uzorci nisu pogodni za izvođenje elektroforeze se-

(Tube 3) after sampling, and analyzed within 10 minutes. The influence of time periods from centrifugation until analysis was examined on 15 subjects; 3 tubes of blood were collected, centrifuged after 30 minutes of the sampling and analyzed at the following timing: 0-10 (Tube A), 30-40 (Tube B) and 90-100 minutes (Tube C). Venous blood samples were collected in “gel separator” serum tubes, all tubes were completely filled, centrifuged according to the manufacturer’s instructions, without temperature adjustment and left at room temperature until analysis. iCa was measured by potentiometric method on the RapidLab 348 analyzer (Siemens, Suffolk, UK). The obtained values were compared according to RiliBÄK’s criteria (acceptable deviation < 7.5%).

Results: iCa deviations in Tube 2 and Tube 3 in relation to the values in Tube 1 were less than established criteria; medium bias (range); 1.25% (-3.1-3.13) for Tube 2; 1.12% (-1.55-3.91) for Tube 3. iCa deviations in Tube B and Tube C in relation to the values in Tube A were less than established criteria; medium bias (range); 2.38% (-4.58-2.34) for Tube B; 2.79% (-4.72-4.80) for Tube C.

Conclusion: Different time periods from sampling to centrifugation (up to 60 minutes) and from centrifugation until analysis (up to 90 minutes) did not influence the stability of the iCa in the serum.

e-mail: perovic.antonija@gmail.com

103

Effect of hemolysis on serum protein electrophoresis

Božica Sokolić, Adrijana Dorotić, Renata Laškaj, Gabrijela Smoljkić, Marija Mijakić

Department of Medical Biochemistry, Hematology and Coagulation, University Hospital for Infectious Diseases “Dr. Fran Mihaljević”, Zagreb, Croatia

Introduction: According to manufacturers’ recommendations, hemolyzed samples are not suitable for

rumskih proteina (ESP) jer hemoliza dovodi do lažno povišene alfa2- i beta-globulinske frakcije. Cilj ovog istraživanja bio je procijeniti utjecaj hemolize na vrijednosti ESP.

Materijali i metode: U razdoblju od 2 mjeseca, prikupljena su ukupno 34 hemolizirana i nehemolizirana uzorka seruma. LIH reagens (Beckman Coulter, SAD) korišten je za utvrđivanje stupnja hemolize. Uzorci s koncentracijom slobodnog hemoglobina >0,50 g/L opisani su kao hemolizirani. Ukupni proteini u serumu određeni su fotometrijskom metodom na Beckman Coulter AU 680 analizatoru (Beckman Coulter, SAD), a ESP provedena je upotrebom Hydragel 30 Protein(e) na Hydrasis 2^{SCAN} (Sebia, SAD). Usporedba vrijednosti proteina (g/L), alfa-2 (%) i beta-globulinske frakcije (%) napravljena je pomoću MedCalc 12.5.0. statističkog programa (Ostend, Belgija). Vrijednost $P < 0,005$ postavljena je kao granica statističke značajnosti.

Rezultati: Kolmogorov-Smirnovljev test normalnosti distribucije pokazao je da vrijednosti proteina i alfa-2-globulinske frakcije slijede normalnu raspodjelu, a da vrijednosti beta-globulinske frakcije ne slijede normalnu distribuciju te su stoga testirani korištenjem neparametrijskog Wilcoxonovog testa. Parametarskim t-testom dokazana je statistički značajna razlika između nehemoliziranih i hemoliziranih uzoraka u vrijednostima alfa-2-globulinske frakcije ($P < 0,001$). Ostali testirani parametri nisu pokazali statistički značajnu razliku između nehemoliziranih i hemoliziranih uzoraka. Bland-Altmanovom metodom određena je srednja razlika u vrijednostima alfa-2-globulinske frakcije između nehemoliziranih i hemoliziranih uzoraka od -14,2% ($\pm 1,96$ SD -49,8% do 21,3%), što se može smatrati klinički značajnom razlikom prema kriterijima prihvatljivosti temeljenim na biološkoj varijabilnosti.

Zaključak: Prema našim rezultatima, hemolizirani uzorci seruma nisu prikladni uzorci za ESP jer hemoliza može dovesti do statistički i klinički viših vrijednosti alfa-2-globulinske frakcije u odnosu na nehemolizirane uzorke.

e-adresa: bsokolic@bfm.hr

serum protein electrophoresis (SPE) because they increase alpha2- and beta-globulin fraction. The aim of this study was to estimate the influence of hemolysis on the values of SPE.

Materials and Methods: During the period of 2 months, the total of 34 hemolyzed and non-hemolyzed serum samples were collected. LIH reagent (Beckman Coulter, USA) was used to estimate the degree of hemolysis. According to the concentration of free haemoglobin derived from LIH test, all samples with the concentration of free haemoglobin >0.50 g/L were described as hemolyzed.

Total serum proteins were measured using a photometric test on a Beckman Coulter AU 680 analyzer (Beckman Coulter, USA). SPE was performed using Hydragel 30 Protein(e) on a Hydrasis 2^{SCAN} (Sebia, USA) in both, hemolyzed and non-hemolyzed samples. Comparison of the values of proteins (g/L), alpha-2 (%) and beta-globulin fraction (%) was performed using MedCalc 12.5.0. statistical software (Ostend, Belgium). $P < 0.005$ was set as the threshold of significance.

Results: Kolmogorov-Smirnov test showed that the values of proteins and alpha-2-globulin fraction follow normal distribution and that beta-globulin fraction does not distribute normally and is consequently tested using non-parametric tests. Paired t-test showed that there is a statistically significant difference between non-hemolyzed and hemolyzed samples for the values of alpha-2-globulin fraction ($P < 0.001$). Other parameters did not show statistically significant difference. Bland-Altman method showed that there is a mean difference between the values of alpha-2-globulin fraction between non-hemolyzed and hemolyzed samples of -14.2% (± 1.96 SD -49.8% to 21.3%) which can be considered as clinically significant difference when compared to desirable bias specification based on biological variation.

Conclusion: According to our results, hemolyzed serum samples are not suitable samples for SPE because hemolysis can lead to statistically and clinically higher values of the alpha-2-globulin fraction.

e-mail: bsokolic@bfm.hr

104

Pridržavanje predanalitičkih zahtjeva: ključ kvalitete kliničkih laboratorijskih rezultata

Bolarinde J. Lawal, Boto Jaiteh, Gibril Bah, Saffiatou Darboe, Davis Nwakanma

Medical Research Council (MRC) Unit, Gambia

Uvod: Predanalitička faza ispitivanja kliničkog uzorka poznata je kao najvažnija i najosjetljivija faza rada medicinskog laboratorija. Cilj ovog istraživanja bio je ispitati kako ispunjavanje predanalitičkih zahtjeva utječe na kvalitetu laboratorijskih rezultata.

Materijali i metode: Ovo retrospektivno istraživanje provedeno je u *Medical Research Council (MRC) Unit, Gambia* – laboratorij akreditiran prema kriterijima Dobre laboratorijske prakse. Kako bi procijenili učinkovitost i pridržavanje predanalitičkih zahtjeva, pregledali smo sve predanalitičke zahtjeve, postupke i zapise koje je propisao laboratorij u razdoblju od 2012-2014. Kao mjeru kvalitete rezultata ispitivanja pacijenata koristili smo rezultate testa vanjske procjene kvalitete (VPK). Također smo pregledali izvedbu testa vanjske procjene kvalitete tvrtke OneWorld Accuracy, Kanada, koja je provedena kroz tri godine. VPK se radila u tri ciklusa godišnje.

Rezultati: Naši rezultati su pokazali da laboratorij slijedi vrlo dobro dokumentirane predanalitičke postupke koji su navedeni u laboratorijskom priručniku i standardnim operativnim postupcima. U svim ciklusima, laboratorij je postigao 100%-ni rezultat (20/20) za 20 od 23 biokemijska parametra registrirana za VPK. Jedino je amilaza tijekom ciklusa 2 u 2014. godini postigla 60% (12/20), što je ispod granice prihvatljivosti za PK koju je postavio laboratorij ($\geq 80\%$). Zabilježeno je, da dana kada su pokrenuti uzorci ciklusa 2.2014., interna kontrola za amilazu nije bila zadovoljavajuća na dnevnom ciklusu.

Zaključak: Ukupno vrlo uspješna izvedba VPK-a potvrđuje da strogo pridržavanje predanalitičkih postupaka pozitivno utječe na kvalitetu kliničkih laboratorijskih rezultata. Jedini zabilježeni neuspješan rezultat na testu vanjske procjene kvalitete testa tijekom tri godine, bila je amilaze u ciklusu 2.2014 zbog nepridržavanja unaprijed zadanih predanalitičkih postupaka. To naglašava važnost pridržavanja unaprijed zadanih predanalitičkih zahtjeva i njihov

104

Adherence to Pre-examination Procedures: Key to Quality Clinical Laboratory Results

Bolarinde J. Lawal, Boto Jaiteh, Gibril Bah, Saffiatou Darboe, Davis Nwakanma

Medical Research Council (MRC) Unit, Gambia

Introduction: The pre-examination phase of clinical sample testing has been described as the most important and sensitive phase of medical laboratory work. The objective of this study was to examine how adherence to pre-analytical procedures affects the quality of laboratory results.

Materials and Methods: This retrospective study was conducted in the Biochemistry laboratory of Medical Research Council Unit, The Gambia – a Good Clinical Laboratory Practice (GCLP) accredited laboratory. We studied all the pre-examination policies, procedures and records maintained by the laboratory over the period of 2012 to 2014 to assess the effectiveness and adherence to pre-examination processes. Using external proficiency testing (PT) as a measure of the quality of patients' test results, we also reviewed three years external proficiency testing performance of the laboratory provided by OneWorld Accuracy, Canada. The PT ran three cycles per year.

Results: Our findings showed that the laboratory followed robust and documented pre-examination processes as outlined in the Laboratory Handbook and standard Operating Procedures. In all the cycles, the laboratory scored 100% (20/20) in 20 out of the 23 biochemistry parameters registered for external PT. Only Amylase during Cycle 2 of 2014 scored 60% (12/20), which is below the laboratory's acceptable PT cut-off score of $\geq 80\%$. The recorded root cause analysis indicated that Amylase did not pass internal quality control on the day cycle 2 of 2014 PT samples were run.

Conclusion: The overall high PT performance confirms that strict adherence to pre-analytical procedures impacts positively on clinical laboratory results quality. The only case of non-adherence to pre-analytical procedures in the 3 years under review resulted in failure of the amylase test during cycle 2 of 2014 Proficiency Testing. This underscores the importance of adherence to pre-analytical procedures

snažan utjecaj na ukupnu pouzdanost kliničkih rezultata.

e-adresa: blawal@mrc.gm

I05 (Usmeno izlaganje)

Vacurette® Glucomedics epruvete i prevalencija gestacijskog dijabetesa

Marija Kocijančić, Jelena Čargonja, Alma Delić Knežević

Medicinsko-biokemijski laboratorij, Dom zdravlja Primorsko-goranske županije, Rijeka, Hrvatska

Uvod: Točno određivanje koncentracije glukoze ključno je za točnu dijagnozu dijabetesa, pogotovo gestacijskog dijabetesa (GD). Prepostavili smo da će koncentracija glukoze u Glucomedics epruvetama biti lagano povišena, zbog trenutnog djelovanja aditiva koje sadrže, u odnosu na dosadašnje referentne epruvete. Cilj studije je bio ispitati jesu li rezultati dobiveni iz Glucomedics epruveta usporedivi sa rezultatima iz natrij fluorid epruveta te koliko to može utjecati na dijagnozu GD obzirom na promjenu u broju pozitivnih rezultata.

Ispitanici i metode: Uzorci venske krvi skupljeni su od 97 trudnica koje su došle u laboratorij u jutarnjim satima na screening test za GD. Dijagnostički test za screening GD uključuje oralni test opterećenja glukozom (75 g glukoze) koji traje dva sata. Tijekom testa tri smo puta vadili krv (0h, 1h, 2h) direktno u dvije različite epruvete: epruveta I (referentna): BD Vacutainer® NaF/K₂oksalat (lot 4007104, Becton, Dickinson and Company, Plymouth, UK) i epruveta II: Vacurette® Glucomedics Na₂EDTA/NaF/Na citrat-citratna kiselina (lot A140411U, Greiner Bio-one, Kremsmunster, Austrija). Određivanje koncentracije glukoze učinjeno je na Beckman AU 2700 analizatoru koristeći heksokinaznu metodu. Wilcoxon i McNemarov test su korišteni za usporedbu razlike između novih i referentnih epruveta. Rezultati su analizirani koristeći Passing-Bablok analizu i Bland-Altman grafove. Razina značajnosti iznosila je $P < 0,05$.

Rezultati: Koncentracija glukoze bila je viša u Glucomedics epruvetama u odnosu na referentne epruvete i ta razlika je statistički i klinički značajna ($P < 0,001$).

and its strong impact on overall reliability of clinical test results.

e-mail: blawal@mrc.gm

I05 (Oral presentation)

Vacurette® Glucomedics tubes and prevalence of gestational diabetes

Marija Kocijančić, Jelena Čargonja, Alma Delić Knežević

Medical Biochemistry Laboratory of Primorsko-Goranska County Health Care Rijeka, Rijeka, Croatia

Introduction: An accurate plasma glucose measurement is essential for correct diagnosis of diabetes, especially for gestational diabetes mellitus (GDM). We hypothesized that glucose concentration in Glucomedics tubes should be slightly elevated in regard to the reference tubes due to the immediate additive activity. The aims of this study were to ascertain whether the results from Glucomedics tubes compatible with sodium fluoride tubes results and potential impact on the diagnosis of gestational diabetes on basis change of positive results.

Subjects and Methods: Venous blood samples were collected from 97 pregnant women who were admitted to the laboratory in the morning for GDM screening. Diagnostic test for GDM screening included three points 2h oral glucose tolerance test (OGTT) with 75 g glucose load. Blood was taken three times (0h, 1h, 2h) directly into two different plasma vacuum tubes: Tube I (reference): BD Vacutainer® NaF/K₂oxalate (lot 4007104, Becton, Dickinson and Company, Plymouth, UK) and Tube II: Vacurette® Glucomedics Na₂EDTA/NaF/Nacitrate-citric acid buffer (lot A140411U, Greiner Bio-one, Kremsmunster, Austria). Glucose determination was performed on Beckman AU 2700 using hexokinase method. The Wilcoxon and McNemar's tests were applied to evaluate the difference of the new blood collection tube. Results were analyzed using Passing-Bablok and Bland-Altman plots for association and differences. The level of significance was set as $P < 0.05$.

Results: Plasma glucose concentrations were statistically significant higher in Glucomedics tubes com-

Bland-Altman graf pokazao je visoki stupanj iskrivljenja (8,9 do 9,7%), a Passing-Bablok regresijska analiza je pokazala dobru povezanost između mjerenih vrijednosti. Značajna razlika uočena je u povećanju pozitivnih rezultata za dijagnozu GD u mjerenjima glukoze u Glucomedics epruvetama (49,3%, $P < 0,001$).

Zaključak: Glucomedics epruvete imaju prednosti za najtočniju procjenu koncentraciju glukoze, ali dodatna poboljšanja su potrebna u smislu faktora razjedenja.

e-adresa: marija.percan@gmail.com

106

Usporedba koncentracije glukoze u serumu i venskoj plazmi

Bojana Kranjčec, Snježana Semenski, Pavao Tomašković

Medicinsko biokemijski laboratorij, Opća bolnica Zabok i bolnica hrvatskih veterana, Zabok, Hrvatska

Uvod: Preporučeni uzorak za određivanje koncentracije glukoze je venska plazma. Uzorcima koji se uzimaju u liječničkim ordinacijama i transportiraju u laboratorij od vremena uzorkovanja do analize prođe i do nekoliko sati. Uspoređeni su rezultati koncentracije glukoze u serumu i koncentracije glukoze u venskoj plazmi uzorkovane u epruvete koje sadrže inhibitore glikolize (Na EDTA, NaF, limunsku kiselinu i Na citrat).

Materijali i metode: Uzorci krvi uzeti su u serumsku epruvetu bez antikoagulansa – Vacuette Z Serum Sep Clot Activator, Greiner Bio-One i u epruvetu koja sadrži nekoliko inhibitora glikolize – Vacuette Glucomedics, Greiner Bio-One. Analizirani su nakon što je prošlo više od jednog sata od vremena uzorkovanja. Koncentracija glukoze određivana je preporučenom enzimskom UV metodom s heksokinazom proizvođača Beckman Coulter na biokemijskom analizatoru AU 680.

Rezultati: Analizirano je 279 uzoraka seruma i 279 uzoraka venske plazme u koncentracijskom području od 3,7 do 15,8 mmol/L glukoze. Prosječno je proteklo 4,3 h (od 1 do 6 h) od uzorkovanja do analize.

pared to reference NaF/KOx tubes for all three measurements ($P < 0.001$). Bland-Altman difference plots showed high mean bias (8.9 to 9.7%), but Passing-Bablok regression analysis showed good association among the measured values. Significant difference in change of positive results was shown for Glucomedics tubes (49.3%, $P < 0.001$).

Conclusion: Glucomedics tubes have advantages for the most accurate estimation of glucose measurements, but additional improvements are needed due to dilution factor.

e-mail: marija.percan@gmail.com

106

Comparison of glucose concentration in venous plasma and in serum

Bojana Kranjčec, Snježana Semenski, Pavao Tomašković

Medical Biochemistry Laboratory, General Hospital Zabok and Hospital of Croatian Veterans, Zabok, Croatia

Introduction: The venous plasma is the recommended sample for determining glucose. It can take up to several hours between taking a sample in the physician's office and transporting it to the laboratory. Comparison was made between glucose concentration in serum and venous plasma.

Materials and Methods: Blood samples were collected in serum tubes without anticoagulant – Vacuette Z Serum Sep Clot Activator, Greiner Bio-One and in a test tube containing several inhibitors of glycolysis (EDTA, NaF, citric acid and Na citrate) – Vacuette Glucomedics, Greiner Bio-One. They were analyzed after it has been more than one hour from the time of sampling. Concentration of glucose was determined by enzymatic UV test on BC AU680.

Results: A total of 279 serum samples and 279 samples of venous plasma concentration in range of 3.7 to 15.8 mmol/L glucose were analyzed. Average time from sampling till analysis was 4.3h (1 to 6h). Pearson correlation coefficient $r = 0.9935$ with $P < 0.05$, indicate a strong correlation between the concentration of glucose. Passing Bablok analysis indicates the existence of a constant (+4.722) and proportional

Pearsonov koeficijent korelacije $r=0,9935$ uz $P<0,05$, ukazuje na izvrsnu povezanost koncentracije glukoze. Passing Bablok analizom dobiven je pravac regresije koji ukazuje na postojanje konstantne (+4,722) i proporcionalne (-7,6%) razlike među izmjerenim vrijednostima, ali uz različit predznak. Bland-Altman analizom utvrđeno je da je više od 95% rezultata unutar $\pm 1,96SD$ te nema statističke značajne razlike između mjerenja, ali su razlike između koncentracije glukoze veće u području viših koncentracija (niža u venskoj plazmi u odnosu na serum).

Zaključak: Nema statistički značajne razlike u koncentraciji glukoze ako se krv uzorkuje u serumske ili u epruvete s inhibitorima glikolize. Koncentracije glukoze u višem koncentracijskom području niže su u epruvetama s inhibitorima glikolize nego u serumskim epruvetama što nije u skladu s deklaracijama proizvođača o stabilnosti uzoraka. Moguće je uzorkovanje krvi za određivanje glukoze samo u serumskim epruvetama ukoliko se analiza obavi unutar 6 sati od uzorkovanja.

e-adresa: bojanakranjcec@gmail.com

I07 (Usmeno izlaganje)

Analiza podataka o surogatnim biljezima kontaminacije uzoraka s K-EDTA

Lora Dukić, Nora Nikolac, Ana-Maria Šimundić

Klinički zavod za kemiju, Klinički bolnički centar Sestre milosrdnice, Zagreb, Hrvatska

Uvod: Jedan od preporučenih koraka u postupku uzorkovanja venske krvi – redosljed epruveta – je predmet rasprave između laboratorijskih stručnjaka. U literaturi postoje kontradiktorni podaci o kontaminaciji uzoraka sa K-etilendiamino tetraoctenom kiselinom (K-EDTA), koja nastaje kao posljedica nepridržavanja preporuka vezanih uz redosljed epruveta kod uzorkovanja venske krvi. Kao surogatni biljezi kontaminacije uzorka s K-EDTA najčešće se spominju kalij (K), kalcij (Ca) i magnezij (Mg). Cilj našeg istraživanja bio je da utvrditi učestalost kontaminacije serumskih uzoraka s K-EDTA u našem laboratoriju tijekom jedne godine analizom podataka o surogatnim biljezima.

differences (-7.6%) between the measured values, but with different sign was obtained. Bland-Altman analysis showed that more than 95% of the results were within $\pm 1.96SD$. Differences between glucose concentrations in the area of higher concentration are greater (it is lower in venous plasma compared to serum).

Conclusion: No statistical significant differences were found in glucose concentration if blood sampling is done via serum tubes or in the tube with glycolytic inhibitor. In the higher concentration range glucose is lower in the test tube containing a glycolytic inhibitor than in serum specimens which is not in accordance with the manufacturer's declarations regarding to stability of samples. It is possible to obtain blood sample for the glucose determination in serum tubes only if the analysis is made within six hours of sampling.

e-mail: bojanakranjcec@gmail.com

I07 (Oral presentation)

Data analysis of surrogate markers for detection of K-EDTA contamination

Lora Dukić, Nora Nikolac, Ana-Maria Šimundić

University Department of Chemistry, University Hospital Centre Sestre milosrdnice, Zagreb, Croatia

Introduction: There is ongoing debate among laboratory professionals on one of the recommended steps in phlebotomy procedure – order of draw. Many contradictory data on K-ethylenediaminetetra acetic acid (K-EDTA) contamination of samples as consequence of non-compliance to order of draw are published. Analytes commonly used as surrogate markers of K-EDTA contamination are potassium (K), calcium (Ca) and magnesium (Mg). Aim of our study was to assess frequency of K-EDTA contamination on samples analyzed in our laboratory during one-year period by data analysis of surrogate markers.

Materijali i metode: Iz našeg laboratorijskog informacijskog sustava (LIS) smo obradili podatke za period od travnja 2014. do travnja 2015. Analizirani su rezultati kreatinina, kalija, kalcija i magnezija za uzorke bolničkih i ambulantnih pacijenata. Za uzorkovanje su se koristile epruvete proizvođača Greiner Bio One. Uzorci su se obrađivali na biokemijskom analizatoru Architect c8000. Koncentracija kreatinina $>150 \mu\text{mol/L}$ je definirana kao cut-off za poremećaj funkcije bubrega, dok je hiperkalijemijom smatrana koncentracija $K \geq 5,5 \text{ mmol/L}$. Za hipokalcemiju je definirana cut-off koncentracija bila $\text{Ca} < 2,14 \text{ mmol/L}$, a za hipomagnezemiju $\text{Mg} < 0,65 \text{ mmol/L}$. Podaci su analizirani pomoću programa Microsoft office excel.

Rezultati: Analizirani su podaci za 50435 uzoraka. Od ukupnog broja ($N=50435$), nađeno je 812 (1,6%) uzoraka s hiperkalijemijom. Kod onih uzoraka ($N=391$; 0,8%) koji su imali istodobno kreatinin $<150 \mu\text{mol/L}$, posumnjalo se na lažnu hiperkalijemiju. U toj grupi uzoraka, nađeno je $N=31$ (0,06%) uzoraka sa hipokalcemijom, dok hipomagnezemija nije nađena.

Zaključak: Temeljem ove retrospektivne analize podataka o surogatnim biljezima zaključujemo da kontaminacija uzoraka s K-EDTA nije prisutna kao predanalitička pogreška u našoj ustanovi.

e-adresa: lora.dukic@gmail.com

Materials and Methods: We extracted data from our Laboratory Information System (LIS) for one-year period (from April of 2014 to April of 2015). Creatinine, potassium, calcium and magnesium results were analyzed for patient samples collected at hospital wards and outpatient samples. Greiner Bio One collection devices were used for collection of samples. Samples were analyzed on Abbott Architect c8000 biochemistry analyzer. Creatinine concentration $>150 \mu\text{mol/L}$ was defined as cut-off for kidney function disorder, while concentration of $K \geq 5.5 \text{ mmol/L}$ was considered as hyperkalemia. Cut-off for hypocalcaemia was $\text{Ca} < 2.14 \text{ mmol/L}$ and for hypomagnesaemia it was $\text{Mg} < 0.65 \text{ mmol/L}$. Data were analyzed using Microsoft office excel 2003 program.

Results: Data from 50435 samples were analyzed. Out of total number ($N=50435$), there were found 812 (1.6%) samples with hyperkalemia. For those samples ($N=391$, 0.8%) having creatinine concentration $<150 \mu\text{mol/L}$, pseudohyperkalemia was suspected. In that sample group, we found $N=31$ (0.06%) samples having hypocalcaemia, while hypomagnesaemia was not found.

Conclusion: Based on this retrospective data analysis on surrogate markers we conclude that K-EDTA contamination of samples is not preanalytical error in our laboratory.

e-mail: lora.dukic@gmail.com

108

Utjecaj uzorkovanja manje količine uzorka od propisane na rezultate krvne slike

Dragana Antončić¹, Doris Ožanić¹, Vesna Šupak Smolčić^{1,2}, Lidija Bilić -Zulle^{1,2}

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

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

Uvod: Pogrešan omjer krvi i tekućeg antikoagulanasa zbog uzorkovanja manje količine krvi od propisane, može biti uzrokom pogrešnih rezultata. Cilj ovog rada je ispitati utjecaj premale količine uzorka na rezultate krvne slike.

108

The influence of inadequate sample volume on complete blood count results

Dragana Antončić¹, Doris Ožanić¹, Vesna Šupak Smolčić^{1,2}, Lidija Bilić -Zulle^{1,2}

¹Clinical Department of Laboratory Diagnostics, Clinical Hospital Centre Rijeka, Rijeka, Croatia

²Department of Medical Informatics, Rijeka University School of Medicine, Rijeka, Croatia

Introduction: The inadequate ratio of blood and liquid anticoagulant due to insufficient blood volume can lead to erroneous results. The aim of this study was to investigate the influence of insufficient sample volume on complete blood count (CBC) results.

Materijali i metode: Istraživanje je provedeno u Kliničkom zavodu za laboratorijsku dijagnostiku KBC-a Rijeka od prosinca 2014. do ožujka 2015. Svi su uzorci uzeti u epruvete BD Vacutainer® (Becton Dickinson and Company, Franklin Lakes, NJ, USA) s tekućim K₃EDTA antikoagulansom i propisanom volumenom uzorka 3 mL. Parametri krvne slike određeni su na analizatoru Advia 2120i (Siemens, Dublin, Ireland). Za svaki nepropisno uzorkovani uzorak (<3 mL) traženo je ponovno uzorkovanje do oznake (N=57). Usporedba rezultata nesukladnog uzorka te ispravno uzetog uzorka učinjena je u parnim t-testom za eritrocite, hemoglobin, hematokrit, MCV i trombocite, odnosno Wilcoxonovim parnim testom za leukocite uz razinu značajnosti P<0,05. Klinička značajnost ocijenjena je prema vrijednostima klinički značajne promjene (RCV).

Rezultati: Statistički značajna razlika dokazana je za sve parametre osim MCV-a i leukocita. Srednje vrijednosti prvog i drugog uzorka (X±SD) te pripadajuće P vrijednosti su: eritrociti (3,81±0,71×10¹²/L vs. 3,88±0,71×10¹²/L; P<0,001), hemoglobin (110±21g/L vs. 112±20g/L; P<0,001); hematokrit (0,331±0,065L/L vs. 0,340±0,066L/L; P=0,002), MCV (87,8±6,5fL vs. 87,6±6,5fL; P=0,287), trombociti (213±162×10⁹/L vs. 219±162×10⁹/L; P=0,019) i leukociti (median(raspon)): (7,0 (4,6-10,0)×10⁹/L vs 7,6 (4,5-11,0) ×10⁹/L; P=0,360). Klinički značajna razlika nije dokazana za niti jedan parametar. RCV vrijednosti izračunate su temeljem analitičkih koeficijena varijacije (KV_a) unutarnje kontrole kvalitete (prosinac 2014 – ožujak 2015). Izmjerena odstupanja (%) / RCV / KV_a (%) su: eritrociti 2,0/9,2/0,9; hemoglobin 1,9/8,4/1,0; hematokrit 3,0/8,3/1,3; MCV -0,2/4,3/0,7; trombociti 2,3/25,8/1,9; leukociti 2,0/32,0/1,8.

Zaključak: Unatoč dokazanoj statistički značajnoj razlici, za većinu parametara krvne slike nije dokazana i klinički značajna razlika. Međutim, rezultate istraživanja potrebno je interpretirati s oprezom jer se granice kliničke odluke ne mogu uvijek interpretirati prema biološkoj varijabilnosti što je posebno važno prilikom liječenja.

e-adresa: dragana.antoncic@gmail.com

Materials and Methods: The study was conducted in the Department of laboratory diagnostics, CHC Rijeka from December 2014 to March 2015. All the samples were taken in the BD Vacutainer® (Becton Dickinson and Company, Franklin Lakes, NJ, USA) with liquid K₃EDTA anticoagulant (volume=3mL). CBC was measured on hematology analyzer ADVIA 2120i (Siemens, Dublin, Ireland). Each insufficient sample (<3 mL) was re-sampled to correct volume (N=57). Paired t-test was used for comparison of erythrocytes, hemoglobin, hematocrit, MCV, platelets and Wilcoxon paired test for leukocytes. Significance level was set to P<0.05. Clinically significant difference was evaluated according to reference change value (RCV).

Results: There is a statistically significant difference for all the parameters except for MCV and leukocytes. Mean values of the first and second sample (X±SD) and associated P values are: erythrocytes (3.81±0.71×10¹²/L vs. 3.88±0.71×10¹²/L; P<0.001), hemoglobin (110±21g/L vs. 112±20g/L; P<0.001); hematocrit (0.331±0,065L/L vs. 0.340±0,066L/L; P=0.002), MCV (87,8±6,5fL vs. 87,6±6,5fL; P=0.287), platelets (213±162×10⁹/L vs. 219±162×10⁹/L; P=0.019) and leukocytes (median (range)): (7.0 (4.6-10.0)×10⁹/L vs. 7.6 (4.5-11.0)×10⁹/L, P=0.360). There was no clinically significant difference for any parameter. RCV values are calculated according to analytical coefficients of variation (CV_a) of internal quality control (December 2014 - March 2015). The measured bias (%) / RCV / CV_a (%) are: erythrocytes 2.0/9.2/0.9; hemoglobin 1.9/8.4/1.0; hematocrit 3.0/8.3/1.3; MCV -0.2/4.3/0.7; platelets 2.3/25.8/1.9; leukocytes 2.0/32.0/1.8.

Conclusion: There is no clinically significant difference between samples despite statistically significant differences for most parameters. However, results of the study should be interpreted with caution because clinical decision limits can not always be interpreted according to the biological variability especially in therapeutic procedures.

e-mail: dragana.antoncic@gmail.com

I09 (Usmeno izlaganje)**Stabilnost laktata u uzorku plazme – alikvot ili NaF?**

Ivana Rako, Ana Mlinarić, Gordana Fressl Juroš, Dunja Rogić

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

Uvod: U uzorku pune krvi nakon flebotomije nastavlja se proces glikolize koji rezultira sniženjem koncentracije glukoze i porastom koncentracije laktata u plazmi. Kako bi se spriječile promjene u koncentraciji laktata najčešće se kao stabilizator koristi NaF. U KBC Zagreb, krv za određivanje laktata prikuplja se u epruvetu s Li-heparinom koja se centrifugira unutar 15 minuta od uzorkovanja, alikvotira i sprema na +4°C do dostave u laboratorij. Cilj je bio dokazati postoji li statistički i/ili klinički važna razlika u koncentraciji laktata izmjerenoj u alikvotu heparinirane plazme (AHP), hepariniranoj plazmi koja nije odvojena od stanica (HP) i u plazmi iz krvi prikupljene u epruvetu s NaF/K₃EDTA (NaFP) koja se preporučuje za određivanje laktata.

Materijali i metode: U 52 bolesnika sa sumnjom na hipoksiju, krv je prikupljena u epruvete s Li-heparinom i NaF/K₃EDTA. Vrijednosti laktata izmjerenе su na uređaju Roche Cobas c501 u sva tri uzorka. Statistički značajna razlika ispitana je korištenjem Wilcoxonovog testa ($P < 0,05$). Klinički važna razlika ispitana je korištenjem Passing-Bablokove regresijske analize.

Rezultati: Izmjerene vrijednosti laktata obuhvaćaju područje od 0,34-5,66 mmol/L (medijan AHP 1,17; 95%CI 1,0887-1,2575; HP 1,38; 95%CI 1,2800-1,5875; NaFP 1,01; 95%CI 0,8725-1,1300). Wilcoxonov test pokazuje da postoji statistički značajna razlika u koncentraciji laktata izmjerenoj u AHP i u HP u odnosu na NaFP ($P < 0,0001$). Passing-Bablokova regresijska analiza za vrijednosti laktata u AHP u odnosu na NaFP pokazuje da postoji konstantna razlika u koncentraciji laktata (95%CI 0,018-0,163; $y = 0,1005 + 1,0342x$) koja nije klinički važna. Također, za vrijednosti laktata izmjerene u HP u odnosu na NaFP postoji proporcionalna razlika (95%CI 1,157-1,420; $y = 0,0744 + 1,2800x$), što je neprihvatljivo s obzirom na uski referentni interval i veliku intraindividualnu varijabilnost od 27%.

I09 (Oral presentation)**Stability of lactate in a plasma sample - aliquot or NaF?**

Ivana Rako, Ana Mlinarić, Gordana Fressl Juroš, Dunja Rogić

Department of Laboratory Diagnostics, University Hospital Centre Zagreb, Zagreb, Croatia

Introduction: Glycolysis continues after phlebotomy and results in decreased glucose and increased lactate plasma levels. In order to prevent changes in lactate concentration, NaF is the most commonly used stabilizer. In UHC Zagreb, blood for lactate determination is collected in Li-heparin tube, centrifuged within 15 minutes of sampling, aliquoted and stored at +4°C until delivery to laboratory. The goal was to find out if there are statistically and/or clinically significant differences in the concentration of lactate measured in an aliquot of heparinized plasma (AHP), heparinized plasma which is not separated from cells (HP), and plasma from blood collected in NaF/K₃EDTA tube (NaFP) recommended for lactate determination.

Materials and Methods: In 52 patients with suspected hypoxia, blood was collected in Li-heparin and NaF/K₃EDTA tubes. Lactate was measured on Roche Cobas C501 analyser in all samples. A statistically significant difference was tested using the Wilcoxon's rank sum test ($P < 0.05$). Clinically significant difference was tested using Passing-Bablok regression analysis.

Results: Lactate values were between 0.34 and 5.66 mmol/L (median AHP 1.17; 95%CI 1.0887-1.2575; HP 1.38; 95%CI 1.2800-1.5875; NaFP 1.01; 95%CI 0.8725-1.1300). Wilcoxon's rank sum test results have shown that there is a statistically significant difference in the concentration of lactate measured in AHP and HP compared to NaFP ($P < 0.0001$). Passing-Bablok regression analysis for values in AHP compared to NaFP has shown that there is a constant difference in lactate concentration (95%CI 0.018-0.163; $y = 0.1005 + 1.0342x$), which is not clinically significant. Also, there was a proportional difference between values in the HP compared to NaFP (95%CI 1.157-1.420; $y = 0.0744 + 1.2800x$), which is unacceptable in view of the narrow reference interval and large intraindividual variation of 27%.

Zaključak: Možemo zaključiti da se AHP može koristiti kao uzorak za određivanje laktata u plazmi, uz zadovoljene prijeanalitičke zahtjeve, jer pokazuje prihvatljivo odstupanje rezultata u odnosu na preporučeno uzorkovanje krvi.

e-adresa: irako@kbc-zagreb.hr

Conclusion: We can conclude that AHP can be used as a sample to determine lactate levels, if pre-analytical requirements are met, because it shows an acceptable deviation of results in relation to the recommended blood sampling.

e-mail: irako@kbc-zagreb.hr

110

Procjena rizika od neautomatiziranog postupanja s hemolitičnim uzorcima na sigurnost pacijenta

Marijana Miler¹, Nora Nikolac¹, Ana Helena Lukšić¹, Ana Bakliža², Lora Dukić¹, Ana-Maria Šimundić¹

¹Klinički zavod za kemiju, Klinički bolnički centar Sestre milosrdnice, Zagreb, Hrvatska

²Odjel za laboratorijsku dijagnostiku, Psihijatrijska bolnica "Sveti Ivan", Zagreb, Hrvatska

Uvod: Neautomatizirano postupanje s hemolitičnim uzorcima nije standardizirano i dovodi do laboratorijskih pogrešaka koje mogu imati značajan utjecaj na kliničku odluku te ugroziti sigurnost bolesnika. Cilj istraživanja bio je procijeniti rizik za bolesnika uzrokovan laboratorijskim pogreškama nastalim uslijed neautomatiziranog postupanja s hemolitičnim uzorcima.

Materijali i metode: Retrospektivnom analizom jedna je osoba na uzorcima zaprimljenim tijekom tjedan dana (N=3185) vizualno procijenila stupanj hemolize usporedbom s obojanom skalom za 25 hitnih pretraga. Za hemolitične uzorke (koncentracija slobodnog hemoglobina >0,5 g/L) iz laboratorijskog informacijskog sustava prikupljeni su zadani testovi i izdani rezultati. Za svaki od testova utvrđen je ispravan način postupanja s rezultatima (izdan ili odbijen). Procjena rizika od nepovoljnih događaja načinjena je prema standardu ISO 14971 s 5 kategorija rizika (S1=minimalni učinak, S2=ponovljeno uzorkovanje, S3=odgođena dijagnoza, S4=pogrešna terapija, S5=potencijalno smrtni ishod) i učestalosti (O1<10%, O2=10-20%, O3=21-50%, O4=51-75%, O5=76-100%). Kritične kategorije koje zahtijevaju trenutnu popravnu radnju su imale najveću kombinaciju učestalosti i rizika.

110

Risk assessment for manual handling of hemolyzed samples on patient safety

Marijana Miler¹, Nora Nikolac¹, Ana Helena Lukšić¹, Ana Bakliža², Lora Dukić¹, Ana-Maria Šimundić¹

¹University Department of Chemistry, University Hospital Centre Sestre milosrdnice, Zagreb, Croatia

²Department of Laboratory Diagnostics, Psychiatric Hospital "Sveti Ivan", Zagreb, Croatia

Introduction: Manual handling of hemolyzed samples is not standardized and is error prone. This could lead to significant impact on clinical decision and patient safety. We aimed to assess the risk for patient safety caused by laboratory errors due to manual handling of hemolyzed samples.

Materials and Methods: All laboratory samples (N=3185) were visually assessed for hemolysis by one person in the period of one week. In this retrospective analysis 25 emergency tests were included. Hemolysis was assessed by comparison with a color chart and all samples with concentration of free hemoglobin >0.5 g/L were considered hemolyzed. Data were retrospectively obtained from laboratory information system. Correct way of handling the results (results reported or sample rejected) was determined for each test. Risk assessment was done according to ISO 14971 standard with 5 risk categories (S1=minimum impact, S2=additional sampling, S3=delayed diagnosis, S4=inappropriate therapy, S5=possible fatal outcome) and frequencies of occurrence (O1<10%, O2=10-20%, O3=21-50%, O4=51-75%, O5=76-100%). Critical categories were defined as those with the highest combination of risk and occurrence rate. For these tests some immediate

Rezultati: U navedenom razdoblju u hitni laboratorij zaprimljeno je 495 hemolitičnih uzoraka s ukupno 2518 pretraga (15,5%). Od ukupno zatraženih pretraga u hemolitičnim uzorcima 31% (N=780) rezultata je pogrešno izdano, što je 4,8% od ukupno zatraženih pretraga u tom razdoblju. Većina neispravno izdanih rezultata (67%) je bila izdana unatoč značajnom utjecaju hemolize na rezultat dok je 33% je bilo nepotrebno odbijenih uzoraka. Pretrage u kategoriji s najvećom kombinacijom učestalosti i rizika bile su troponin T (S5, O5), kalij (S5, O4) i ukupni bilirubin (S4, O4).

Zaključak: Neautomatizirano postupanje s hemolitičnim uzorcima dovodi do rizika od pogrešnog izdavanja rezultata za troponin T, kalij i ukupni bilirubin što može bitno utjecati na kliničku odluku i ishod liječenja.

e-adresa: marijana.miler@gmail.com

corrective measures are necessary to improve the patient safety.

Results: In the period of one week emergency laboratory has received 2518 test requests in 495 hemolyzed samples (15.5%). Even 780 results (31%) were incorrectly reported accounting for 4.8% of the total test volume. The majority (67%) of erroneously reported results was made available to physicians in spite of being hemolysed. Even 33% of samples were unnecessarily rejected. Tests in critical category with the highest combination of risk and occurrence rate were troponin T (S5, O5), potassium (S5, O4) and total bilirubin (S4, O4).

Conclusion: Manual handling with hemolyzed samples may lead to risk of errors in reporting results for troponin T, potassium and total bilirubin which may impact clinical decision and patient outcome.

e-mail: marijana.miler@gmail.com

J – Ostalo

J01

Dijagnostički značaj i prisustvo IgA i IgG klase protutijela usmjerenih na *Helicobacter pylori* u serumu simptomatskih bolesnika

Jordan Petrov

PZU PAVLINA, Skopje, Macedonia

Uvod: Infekcija *Helicobacter pylori* jedna je od najčešćih infekcija. Postoji dosta metoda za njenu dijagnozu. Pored endoskopije, brzog ureaza testa, izdisajnog testa, određivanja antigena u stolici, moguće je *Helicobacter pylori* odrediti i u krvi. Cilj ove studije bio je odrediti prisustvo IgG i IgA klase protutijela usmjerenih na *Helicobacter pylori* kod osoba sa znakovima bolesti te kod bolesnika s dijagnosticiranom infekcijom.

Ispitanici i metode: U našoj studiji bila su uključena ukupno 64 ispitanika, 35 je imalo dijagnosticiranu infekciju *Helicobacter pylori*. ELISA kit *H. pylori* IgA i IgG firme Monobind USA koristili smo za određivanje koncentracije protutijela u serumu ispitanika.

J – Other

J01

Diagnostic value and presence of IgA and IgG *Helicobacter pylori* antibodies in blood serum from symptomatic patients

Jordan Petrov

PZU PAVLINA, Skopje, Macedonia

Introduction: Infection with *Helicobacter pylori* is one of the most common infections in the world. There are lots of methods for diagnosing *H. pylori* infection. Beside endoscopy, Rapid urease test, Breath test, Fecal antigen test is measuring *H. pylori* antibodies in blood serum. The aim of this study was to investigate presence of *Helicobacter pylori* antibodies IgG and IgA in patients with symptoms and already diagnosed patients with *Helicobacter pylori* infection.

Subjects and Methods: In our study were included 64 patients, 35 of them with already diagnosed *Helicobacter pylori* infection. We use ELISA kits *H. pylori* IgA and *H. pylori* IgG from Monobind USA for measuring serum levels.

Rezultati: Svi bolesnici s predhodno dijagnosticiranom infekcijom imaju više vrijednosti IgG klase protutijela usmjerenih na *H. pylori*. 40 bolesnika (64,5%) ima povišene vrijednosti IgG klase, a 10 bolesnika (16%) ima povišene vrijednosti IgA klase protutijela. Od svih bolesnika s povišenim vrijednostima IgA klase protutijela, 4 bolesnika imaju i povišene vrijednosti IgG dok preostalih 6 imaju negativan rezultat IgG klase protutijela. Niti jedan od predhodno dijagnosticiranih pacijenata nije bio pozitivan na IgA klasu protutijela usmjerenih na *H. pylori*. Rezultati IgA klase protutijela usmjerenih na *H. pylori* vrlo dobro su korelirali sa drugim studijama.

Zaključak: Bolesnici sa infekcijom *H. pylori* predominantno imaju IgG klasu protutijela u imunološkom odgovoru, ali poznato je da postoji mala grupa seronegativnih bolesnika koji su IgG negativni i IgA pozitivni. Preporučamo testirati IgA zajedno s IgG u svrhu točnije dijagnoze. Pozitivan rezultat IgA klase protutijela može biti klinički značajan pogotovo uz negativan rezultat IgG protutijela kod bolesnika s infekcijom *H. pylori*.

e-adresa: genolabdoel@yahoo.com

Results: All patients prior diagnosed have higher values for *H. pylori* IgG. 40 patients or 64.5% have higher values for IgG antibodies and 10 patients or 16% have higher values for IgA antibodies respectively. From the patients IgA positive 4 have IgG and IgA antibodies positive and other 6 were IgG negative. No one of the prior diagnosed patients was positive *H. pylori* IgA antibodies. The results of *H. pylori* IgA antibodies very well correlated with prior other studies.

Conclusion: Individuals with *H. pylori* infection have predominant IgG immune response but is also known that there is small group seronegative patients who are IgG negative and IgA positive. We recommend testing IgA with IgG antibody test for more accurate diagnosis. IgA positive result may have very big clinical significance especially when IgG serology is negative.

e-mail: genolabdoel@yahoo.com

J02

Abdominalna pretilost je mogući neovisni pokazatelj povišenog serumskog cistatina C kod debelih/pretilih žena u postmenopauzi

Aleksandra Klisic¹, Nebojsa Kavacic¹, Milovan Jovanovic¹, Najdana Gligorovic-Barhanovic², Dragica Bozovic², Marija Matic³

¹Primary Health Care Center, Podgorica, Montenegro

²Center of Clinical-Laboratory Diagnostics, Clinical Center of Montenegro, Podgorica, Montenegro

³Institute of Medical and Clinical Biochemistry, Faculty of Medicine, University of Belgrade, Serbia

Uvod: Ranije studije pokazale su povezanost cistatina C s postmenopauzom, ali nije jasno da li je ta povezanost posljedica povišene tjelesne težine ili same menopauze. S obzirom na to, naš cilj je bio procijeniti povezanost cistatina C i spolnih hormona (ukupnog estradiola, ukupnog testosterona, folikul stimulirajućeg hormona (FSH), luteinizirajućeg hormona (LH)), globulina koji veže spolne hormone (SHBG) i antro-

J02

Abdominal obesity may be the independent predictor of elevated serum cystatin C levels in overweight/obese postmenopausal women

Aleksandra Klisic¹, Nebojsa Kavacic¹, Milovan Jovanovic¹, Najdana Gligorovic-Barhanovic², Dragica Bozovic², Marija Matic³

¹Primary Health Care Center, Podgorica, Montenegro

²Center of Clinical-Laboratory Diagnostics, Clinical Center of Montenegro, Podgorica, Montenegro

³Institute of Medical and Clinical Biochemistry, Faculty of Medicine, University of Belgrade, Serbia

Introduction: Previous studies have reported the association of cystatin C with postmenopause but it is not clear whether this association is due to increased weight gain or menopause per se. Therefore, we aimed to evaluate the association between cystatin C and sex hormones (total estradiol, total testosterone, follicle-stimulating hormone (FSH), luteinizing hormone (LH)), sex hormone-binding

pometrijskih parametara kod debelih/pretilih žena u postmenopauzi s normalnom funkcijom bubrega.

Ispitanici i metode: Ukupno 100 debelih/pretilih žena u postmenopauzi (prosječne dobi $56,7 \pm 4,8$ godina) i 50 kontrolnih ispitanica iste dobi i normalne tjelesne težine bilo je uključeno u ovo presječno istraživanje. Određene su koncentracije serumskog cistatina C, kreatinina, ukupnog estradiola i testosterona, FSH, LH i SHBG. Izmjereni su antropometrijski parametri (tjelesna težina, visina i opseg struka). Indeks tjelesne težine (BMI) i procjena brzine glomerularne filtracije (eGFR) dobiveni su računski. Pearsonov koeficijent korelacije korišten je za utvrđivanje povezanosti između cistatina C i ostalih varijabli. Višestruka regresijska analiza napravljena je u svrhu identifikacije neovisnih čimbenika koji utječu na cistatin C i za procjenu konačnih prediktora tih varijabli. P vrijednost $<0,05$ smatrana je statistički značajnom.

Rezultati: Debele/pretile žene u postmenopauzi imale su više koncentracije cistatina C od kontrolne skupine ($P < 0,001$). Serumski cistatin C korelirao je s dobi ($r = 0,308$; $P < 0,001$), BMI ($r = 0,391$; $P < 0,001$), opsegom struka ($r = 0,440$; $P < 0,001$), FSH ($r = -0,209$; $P = 0,038$), SHBG ($r = -0,254$; $P = 0,011$), kreatininom ($r = 0,361$; $P < 0,001$) i eGFR ($r = -0,406$; $P < 0,001$), ali nije korelirao s vrijednostima ukupnog estradiola i testosterona. Višestruka regresijska analiza pokazala je da su jedino opseg struka (Beta= $0,349$; $P < 0,001$) i eGFR (Beta= $-0,377$; $P < 0,001$) neovisno povezani s cistatinom C ($R^2 = 0,318$; $P < 0,001$).

Zaključak: Abdominalna pretilost, ali ne i spolni hormoni mogla bi neovisno ukazati na povišene vrijednosti serumskog cistatina C kod debelih/pretilih žena u postmenopauzi.

e-adresa: aleksandrklisic@gmail.com

globulin (SHBG) and anthropometric parameters in overweight/obese postmenopausal women with normal kidney function.

Subjects and Methods: A total of 100 overweight/obese postmenopausal women (mean age 56.7 ± 4.8 years), and 50 age-matched normal weight controls were included in this cross-sectional study. Serum cystatin C levels, creatinine, total estradiol and testosterone, FSH, LH, and SHBG were determined. Anthropometric parameters (body weight, body height and waist circumference (WC)) were measured. Body mass index (BMI) and estimated glomerular filtration rate (eGFR) were calculated. A correlation analysis by Pearson's (r) correlation coefficient was used to determine the relationships between serum cystatin C level and other variables. Multiple regression analysis was performed to identify independent factors affecting serum cystatin C and to estimate the final predictors of its variability. A P value of <0.05 was considered as statistically significant.

Results: Overweight/obese postmenopausal women displayed higher cystatin C levels than normal weight group ($P < 0.001$). Serum cystatin C correlated with age ($r = 0.308$, $P < 0.001$), BMI ($r = 0.391$, $P < 0.001$), WC ($r = 0.440$, $P < 0.001$), FSH ($r = -0.209$, $P = 0.038$), SHBG ($r = -0.254$, $P = 0.011$), creatinine ($r = 0.361$, $P < 0.001$), and eGFR ($r = -0.406$, $P < 0.001$), but did not correlate with either total estradiol, or with total testosterone levels. After stepwise multiple linear regression analysis, only waist circumference (Beta= 0.349 , $P < 0.001$) and eGFR (Beta= -0.377 , $P < 0.001$) were independently associated with cystatin C ($R^2 = 0.318$, $P < 0.001$).

Conclusion: Abdominal obesity, but not sex steroids, could independently predict higher serum cystatin C levels in overweight/obese postmenopausal women.

e-mail: aleksandrklisic@gmail.com

J03

Aktivnost eritrocitne glikohidrolaze povezana je s oksidativnim stresom kod pacijenata s infekcijom umjetnog zgloba

Gian Vico Melzi d'Eril¹, Luca Massaccesi², Giancarlo Goi², Daniela Erba³, Carlo Luca Romanò⁴, Angela Leone⁵, Clara Anna Linda Damele⁵, Rossana Stefanelli⁵, Alessandra Barassi¹, Lorenzo Drago^{6,7}

¹Department of Health's Sciences, University of Milan, Milan, Italy

²Department of Biomedical, Surgical and Dental Sciences, University of Milan, Milan, Italy

³DeFENS-Department of Food, Environmental and Nutrition Sciences, University of Milan, Milan, Italy

⁴C.R.I.O. Unit, IRCCS Galeazzi, Milan, Italy

⁵Laboratory of Clinical Chemistry, San Paolo Hospital, Milan, Italy

⁶Laboratory of Clinical Chemistry and Microbiology, IRCCS Galeazzi, Milan, Italy

⁷Department of Biomedical Sciences for Health, University of Milan, Milan Italy

Uvod: Totalna artroplastika kuka i koljena unaprjeđuju kvalitetu života. U slučaju neuspješnog zahvata potrebna je ponovljena, reseksijska artroplastika. Najozbiljnija komplikacija jest infekcija koja se javlja kod 0,8-1,9% pacijenata nakon artroplastike koljena i 0,3-1,7% pacijenata nakon artroplastike kuka. Središnju ulogu u patofiziologiji upale usko povezane s infekcijom ima oksidativni stres (OS) zbog prekomjerne sinteze reaktivnih kisikovih spojeva (RKS). Pokazano je kako stupanj O-glikozilacije proteina N-acetilglukozaminom (O-GlcNAc) može utjecati na put odgovora na stres. Stanične razine O-GlcNAc, regulirane O-GlcNAc transferazama (OGT) i O-β-N-acetilglukozaminidazama (OGA), smatraju se senzori OS. Nadalje, OS inducira modifikaciju fizikalno-kemijskih osobina eritrocitne membrane te sadržaja enzima u membrani. Zbog njihove uloge u signaliziranju ranih promjena na membrani koje nastaju zbog procesa povezanih s OS, nekoliko membranskih i citoplazmatskih eritrocitnih glikohidrolaza predložene su kao novi biljezi staničnog OS.

Materijali i metode: Za procjenu povezanosti eritrocitnih glikohidrolaza i OS mjerili smo reaktivne spojeve tiobarbiturne kiseline (TBARS), hidroperoksida plazme (RKS) i ukupni antioksidativni kapacitet (*lag-time* metodom), citosolni OGA, membransku heksozaminidazu, β-D-glukuronidazu (GCR) i α-D-glukozidazu (αGLU) fluorimetrijskom metodom kod

J03

Levels of human erythrocyte's glycohydrolases are associated to oxidative stress in patients with prosthetic-joint-associated infection

Gian Vico Melzi d'Eril¹, Luca Massaccesi², Giancarlo Goi², Daniela Erba³, Carlo Luca Romanò⁴, Angela Leone⁵, Clara Anna Linda Damele⁵, Rossana Stefanelli⁵, Alessandra Barassi¹, Lorenzo Drago^{6,7}

¹Department of Health's Sciences, University of Milan, Milan, Italy

²Department of Biomedical, Surgical and Dental Sciences, University of Milan, Milan, Italy

³DeFENS-Department of Food, Environmental and Nutrition Sciences, University of Milan, Milan, Italy

⁴C.R.I.O. Unit, IRCCS Galeazzi, Milan, Italy

⁵Laboratory of Clinical Chemistry, San Paolo Hospital, Milan, Italy

⁶Laboratory of Clinical Chemistry and Microbiology, IRCCS Galeazzi, Milan, Italy

⁷Department of Biomedical Sciences for Health, University of Milan, Milan Italy

Introduction: Primary arthroplasties of total hip and total knee improve the quality of life. However, they may fail, necessitating revision or resection arthroplasty. Infection is the most serious complication, occurring in 0.8-1.9% of knee arthroplasties and 0.3-1.7% of hip arthroplasties. A central role in the pathophysiologic "vicious cycle" of inflammation, deeply related to infection, is played by oxidative stress (OS) due to an over production of ROS. Recently has been showed that the degree of proteins O-GlcNAcylation may influence the stress response pathway; cellular levels of O-GlcNAc, regulated by O-GlcNAc transferase (OGT) and O-β-N-Acetyl-Glucosaminidase (OGA), are considered as OS sensor. Moreover, OS induces modifications of the physicochemical properties of erythrocyte (RBC) plasma membranes and of the enzyme content of the same membranes. Due to their role in signaling early membrane alterations in OS related pathologies, several plasma membrane and cytosolic glycohydrolases of human RBC have been proposed as new markers of cellular OS.

Materials and Methods: To evaluate the possible association between RBC glycohydrolases and OS, thiobarbituric acid reactive substances (TBARS), plasma hydroperoxides (ROS) and antioxidant total defenses (by *lag-time* method), cytosolic OGA, membrane Hexosaminidase (Hex), β-D-Glucuronidase

11 pacijenata s infekcijom umjetnog zgloba i kod 30 zdravih kontrola.

Rezultati: Kod pacijenata s infekcijom umjetnog zgloba aktivnosti membranske heksozaminidaze ($P < 0,05$), GCR and α GLU ($P < 0,001$) kao i TBARS i RKS ($P < 0,001$) su bile značajno više u odnosu na zdrave kontrole, dok su ukupni antioksidativni kapacitet ($P < 0,01$) i aktivnost OGA ($P < 0,05$) bili značajno niži u odnosu na zdrave kontrole.

Zaključak: Naši rezultati potvrdili su značajni OS kod pacijenata s infekcijom umjetnog zgloba i ulogu ispitivanih enzima kao osjetljivih pokazatelja OS. Moguća je njihova primjena u praćenju stanja pacijenata s infekcijom umjetnog zgloba u terapiji u smislu prevencije naknadnih zahvata obrade prostetskog zgloba.

e-adresa: gianlodovico.melzi@unimi.it

(GCR), and α -D-Glucosidase (α GLU) (by fluorimetric assay) have been studied in 11 patients with Prosthetic-Joint-associated Infection (PJI) and in 30 matched controls.

Results: In PJI subjects plasma membrane Hex ($P < 0.05$), GCR and α GLU activities ($P < 0.001$) were significantly higher as well as TBARS and ROS ($P < 0.001$), while lag-time values ($P < 0.01$) and OGA ($P < 0.05$) activities were significantly lower.

Conclusion: Our data confirm the strong OS in PJI, the role of considered enzymes as sensitive OS biomarkers and suggest their possible use to monitor conditions of PJI patients under therapies in order to manage and/or prevent the debridement and retention of the prosthesis.

e-mail: gianlodovico.melzi@unimi.it

J04 (Usmeno izlaganje)

Ukupni bilirubin u serumu debelih/pretilih žena u postmenopauzi s metaboličkim sindromom

Aleksandra Klisic, Nebojsa Kavaric, Milovan Jovanovic

Primary Health Care Center, Podgorica, Montenegro

Uvod: Metabolički sindrom (MS) je povezan s povećanim oksidativnim stresom. Nedavna istraživanja pokazuju da ukupni bilirubin (TB) ima važnu ulogu u antioksidativnoj obrani. Sukladno tome, cilj nam je bio utvrditi razinu TB u serumu debelih/pretilih žena u postmenopauzi s MS-om, kao i istražiti potencijalnu povezanost TB-a s komponentama MS-a.

Ispitanici i metode: Ukupno 100 debelih/pretilih žena, prosječne dobi $56,7 \pm 4,8$ godina (49 bez MS-a, 51 s MS-om) bez šećerne bolesti, disfunkcije štitnjače ili kardiovaskularnih bolesti, a koje nisu koristile hormonsku terapiju niti bilo koji drugi lijek, sudjelovalo je u ovom presječnom istraživanju. MS je definiran prema kriterijima Međunarodnog udruženja za šećernu bolest (engl. *International Diabetes Federation*). Od biokemijskih parametara, u serumu su određeni TB, glukoza natašte, ukupni kolesterol, lipoprotein visoke gustoće (HDL), lipoprotein niske gustoće (LDL) i trigliceridi. Izmjereni su antropometrijski parametri

J04 (Oral presentation)

Serum total bilirubin in overweight/obese postmenopausal women with metabolic syndrome

Aleksandra Klisic, Nebojsa Kavaric, Milovan Jovanovic

Primary Health Care Center, Podgorica, Montenegro

Introduction: Metabolic syndrome (MS) is associated with increased oxidative stress. Recent findings indicate that total bilirubin (TB) has important role in antioxidant defense. Therefore, we aimed to determine serum TB level in overweight/obese postmenopausal women with MS, as well as to investigate its potential association with MS components.

Subjects and Methods: A total of 100 overweight/obese postmenopausal women, mean age 56.7 ± 4.8 years (49 without MS and 51 with MS) without diabetes, thyroid dysfunction or cardiovascular disease, and who were not using hormonal therapy or any other medication, participated in this cross-sectional study. MS was defined using International Diabetes Federation criteria. Biochemical parameters including serum TB, fasting glycemia, total cholesterol, high-density lipoprotein (HDL) cholesterol, low-density lipoprotein (LDL) cholesterol and triglycerides were determined. Anthropometric parameters

(tjelesna masa, tjelesna visina i opseg struka) i krvni tlak. Izračunat je indeks tjelesne mase (BMI). Za određivanje odnosa između serumskog TB-a i ostalih varijabli korištena je Spearmanova korelacija (ρ). P vrijednost $<0,05$ smatrala se statistički značajnom.

Rezultati: Kod žena s MS-om dobivene su niže razine TB-a u serumu u usporedbi sa skupinom bez MS-a ($7,90 \pm 2,81$ vs. $9,53 \pm 4,68$ $\mu\text{mol/L}$, $P=0,047$). Serumski TB negativno korelira s ukupnim kolesterolom ($\rho=-0,201$; $P<0,05$), LDL - kolesterolom ($\rho=-0,235$; $P<0,05$), trigliceridima ($\rho=-0,283$; $P<0,01$), ali je u pozitivnoj korelaciji s HDL-kolesterolom ($\rho=0,201$; $P<0,05$) kod svih žena. Nije uočena značajna korelacija TB-a s glukozom natašte, krvnim tlakom ili antropometrijskim indeksima.

Zaključak: Smanjena antioksidativna obrana, izmjerena preko razine TB-a, zabilježena je u debelih/pretilih žena u postmenopauzi s MS-om. Štoviše, povezanost razine TB-a s lipidnim profilom u debelih/pretilih žena upućuje na to da bi TB mogu biti koristan biljeg MS-a.

e-adresa: aleksandrklisic@gmail.com

(body weight, body height and waist circumference), and blood pressure were measured. Body mass index (BMI) was calculated. A correlation analysis by Spearman's (ρ) correlation coefficient was used to determine the relationships between serum TB level and other variables. A P value of <0.05 was considered as statistically significant.

Results: Women with MS displayed lower serum TB level as compared with the group without MS (7.90 ± 2.81 vs. 9.53 ± 4.68 $\mu\text{mol/L}$, respectively, $P=0.047$). Serum TB inversely correlated with total cholesterol ($\rho=-0.201$, $P<0.05$) LDL-cholesterol ($\rho=-0.235$, $P<0.05$), triglycerides ($\rho=-0.283$, $P<0.01$), but positively correlated with HDL-cholesterol ($\rho=0.201$, $P<0.05$) in all women. There were no significant correlations between TB and fasting glycemia, blood pressure or anthropometric indices.

Conclusion: Decreased antioxidant defense as measured by TB was observed in overweight/obese postmenopausal women with MS. Moreover, the association of TB with lipid profile in overweight/obese women suggests that TB may be a useful marker in MS.

e-mail: aleksandrklisic@gmail.com

J05

Kardiotonični steroidi selektivno inhibiraju unos L-arginina preko y^+L transportera u humanim endotelnim stanicama

Marietha J. Nel, Geoff P. Candy

Department of Surgery, Medical School, University of the Witwatersrand, Johannesburg, South Africa

Uvod: Dušikov oksid (NO) ima mnoge fiziološke uloge, od kojih je najvažnija, vazodilatacija krvnih žila u svrhu reguliranja krvnog tlaka. NO se sintetizira iz svog prekursora, L-arginina uz pomoć enzima dušik oksid sintaze (NOS). Stoga je sinteza NO ograničena brzinom unosa L-arginina u endotelne stanice krvnih žila. Prijenos L-arginina u endotelne stanice odvija se pomoću dva transportera na glavnoj staničnoj membrani, y^+L (visok afinitet/mali kapacitet) i y^+ (niski afinitet/veliki kapacitet) transporteri. Unos arginina putem y^+L transportera posebno je važan u stvaranju NO-a. Endogeni kardiotonični steroidi utječu na

J05

Cardiotonic steroids selectively inhibit L-arginine uptake by the y^+L transporter in human endothelial cells

Marietha J. Nel, Geoff P. Candy

Department of Surgery, Medical School, University of the Witwatersrand, Johannesburg, South Africa

Introduction: Nitric oxide (NO) plays many physiological roles, of which importantly, is the vasodilation of the vasculature in order to regulate blood pressure. NO is synthesized from its precursor, L-arginine, by the nitric oxide synthase (NOS) enzyme. Therefore, NO synthesis is limited by the rate of L-arginine uptake by the vascular endothelial cells. The transport of L-arginine into the endothelial cells is by means of two main cell membrane transporters namely: the y^+L (high affinity/low capacity) and the y^+ (low affinity/high capacity) transporters. Indeed, arginine uptake by the y^+L transporter in particular,

učinkovitost Na⁺/K⁺-ATPaze crpke te su stoga uključeni u etiologiju hipertenzije još od 1970. g. Kardiotonični steroid, Ouabain, opisan 1980. g, inhibira Na⁺/K⁺-ATPazu crpku, ali mehanizam kojim inhibicija ove pumpe utječe na krvni tlak još uvijek nije u potpunosti razjašnjen. Cilj studije bio je utvrditi utječe li i u kojoj mjeri Ouabain na unos L-arginina putem y⁺L i y⁺ transporterata na endotelnoj staničnoj membrani.

Materijali i metode: Humanim endotelnim stanicama umbilikalne krvi iscrpljen je arginin preko noći. Početna razina unosa [³H]-L-arginina mjerena je tijekom 30 sekundi u prisutnosti/odsutnosti Ouabaina, sa i bez N-etilmaleimida, inhibitora y⁺ transporterata.

Rezultati: Pri koncentraciji od 10 μM, Ouabain je inhibirao y⁺L transport L-arginina za 34%, dok je koncentracija od 300 μM Ouabaina inhibirala prijenos L-arginina ovim transporterom za 88%. Nasuprot tome, Ouabain nije utjecao na y⁺ membranski transporter.

Zaključak: Ovi podaci pokazuju da Ouabain te možda i drugi kardiotonični steroidi, kao što je digoksin, zaista utječu na unos L-arginina u endotelne stanice. Odgovor na pitanje je li ovaj izravan učinak na unos L-arginina neovisan o aktivnosti Na⁺/K⁺-ATPaze pumpe potrebno je utvrditi.

e-adresa: marietha.nel@wits.ac.za

is involved in NO production. Endogenous cardiotonic steroids affect the efficiency of the Na⁺/K⁺-ATPase pump and have therefore been implicated in the etiology of hypertension since the 1970s. The cardiotonic steroid, Ouabain which was characterized as such in the 1980s, inhibits the Na⁺/K⁺-ATPase pump, but the mechanism by which this pump inhibition affects blood pressure has not yet been fully elucidated. Aim of this study was to establish whether and to what extent Ouabain influences the uptake of L-arginine by the y⁺L and the y⁺ endothelial cell membrane transporters.

Materials and Methods: Confluent human umbilical cord vein endothelial cells were depleted of arginine overnight. The initial rate of [³H]-L-arginine uptake was measured over 30 seconds in the presence/absence of Ouabain, with and without N-ethylmaleimide, an inhibitor of the y⁺ transporter.

Results: At a concentration of 10 μM Ouabain inhibited the y⁺L transport of L-arginine by 34%, while 300 μM Ouabain inhibited L-arginine transport by this transporter by 88%. In contrast, the y⁺ membrane transporter was not affected by Ouabain.

Conclusion: These data indicate that indeed, Ouabain and thus possibly other cardiotonic steroids such as Digoxin, do affect the uptake of L-arginine into endothelial cells. However, whether this is a direct effect on L-arginine uptake, independent of the Na⁺/K⁺-ATPase pump activity, remains to be determined.

e-mail: marietha.nel@wits.ac.za

J06

Ciste doštitne žlijezde – naša iskustva

Ljubica Fuštar Preradović¹, Milena Tadijanović Krnjaić², Davorin Đanić³, Branka Maljković², Ana Đanić Hadžibegović³, Marina Josipović²

¹Odjel za patologiju i citologiju, Opća bolnica „Dr Josip Benčević“, Slavonski Brod, Hrvatska

²Odjel za laboratorijsku dijagnostiku, Opća bolnica „Dr Josip Benčević“, Slavonski Brod, Hrvatska

³Odjel za otorinolaringologiju, Opća bolnica „Dr Josip Benčević“, Slavonski Brod, Hrvatska

Uvod: Ciste doštitne žlijezde (PC) se rijetko nalaze. Predstavljaju dijagnostički i terapijski izazov. Prvi ih

J06

Small nonfunctional parathyroid cyst: diagnostic and therapeutic challenges

Ljubica Fuštar Preradović¹, Milena Tadijanović Krnjaić², Davorin Đanić³, Branka Maljković², Ana Đanić Hadžibegović³, Marina Josipović²

¹Department for Pathology and Cytology, General Hospital „Dr Josip Benčević“, Slavonski Brod, Croatia

²Department for Laboratory Diagnostics, General Hospital „Dr Josip Benčević“, Slavonski Brod, Croatia

³Department for Otorhinolaryngology, General Hospital „Dr Josip Benčević“, Slavonski Brod, Croatia

Introduction: Parathyroid cysts (PCs) account for less than 1% of all parathyroid lesions and are most

je opisao Sandström 1880. godine. Do danas je u literaturi opisano oko 300 slučajeva. Mogu se naći uz režijske štitičnice ili na ektopičnim mjestima, te mogu predstavljati značajan diferencijalno dijagnostički problem prema drugim cističnim tvorbama vrata. Obzirom na razinu parathormona u serumu mogu biti funkcionalne i nefunkcionalne. Cilj ovog rada je pokazati značaj ultrazvučno vođene punkcije tankom iglom cističnih tvorbi vrata, te određivanja nivoa parathormona u punktatu i u serumu.

Ispitanici i metode: Opisali smo 4 slučaja nefunkcionalnih PC. U svim slučajevima učinjen je fizički pregled i pregled vrata ultrazvukom s ultrazvučno vođenom ciljanom aspiracijskom citološkom punkcijom. Dobiveni materijal je za citomorfološku analizu bojan standardnom metodom po MGG-u. Svim pacijentima određen je nivo parathormona u punktatu i u serumu, ukupni kalcij i anorganski fosfati u serumu. Koncentracija PTH u punktatu i u serumu je određena na analizatoru Cobas e411 Roche koji radi na principu elektrokemiluminescencije. Radi se o tzv. "sendvič" postupku s monoklonskim PTH antitijelima. Reakcija traje 18 min. Referentne vrijednosti su: 16-65 pg/ml ili 1,6-6,9 pmol/L. Faktor pretvorbe $\text{pg/ml} \times 0,106 = \text{pmol/L}$.

Rezultati: Kod sve 4 bolesnice u punktatu je nađena visoka razina parathormona. Kod dvije bolesnice bez simptoma je nakon inicijalne punkcije došlo do remisije. Jedna bolesnica je imala kompresivni sindrom s parezom glasnice. Kirurški tretman je bio neophodan. Kod četvrte bolesnice cista je recidivirala, ali je bez simptoma.

Zaključak: Cistične tvorbe vrata mogu predstavljati značajan diferencijalno dijagnostički problem zbog razlika u pristupu bolesniku, načinu liječenja, preoperacijskom i poslijeoperacijskom praćenju. Smatramo da je temelj dijagnoze ehografski pregled s UG-FNA, citološki pregled dobivenog materijala i određivanje razine PTH u punktatu uz određivanje razine PTH u serumu. Visoka razina PTH u punktatu ukazuje da je punktirana tvorba PC. Pretraga je visoko specifična za PC.

e-adresa: mtadijanovic@gmail.com

commonly located along thyroid lobes, rarely at ectopic sites. PCs are important because they can pose a differential diagnostic challenge against other cystic formations of the neck. PCs can be functional (elevated serum parathyroid hormone level) and non-functional.

Subjects and Methods: Four cases of nonfunctional PCs are presented. All four female patients underwent physical examination and ultrasonography of the neck with ultrasound-guided fine-needle aspiration biopsy (UG-FNA). The material thus obtained was stained by the standard May-Grunwald-Giemsa method. Parathyroid hormone level was determined in aspirate and serum (ECMIA-Cobas e411), along with serum levels of total calcium, inorganic phosphates.

Results: In two asymptomatic patients, remission occurred after initial aspiration biopsy; one patient had compression syndrome with vocal cord paresis that required surgical treatment; and one patient had cyst recurrence that was surgically removed.

Conclusion: Cystic neck masses can pose a major differential diagnostic problem considering different approach, treatment method, and preoperative and postoperative follow up. Surgical treatment is necessary in case of functional and large nonfunctional PCs (due to compression syndrome), whereas individualized therapeutic approach is used in case of small nonfunctional PCs. UG-FNA, cytological analysis and determination of parathyroid hormone level in aspirate and serum are crucial for making an accurate diagnosis.

e-mail: mtadijanovic@gmail.com

J07

Intratekalna aktivnost hitotriozidaze kao potencijalni biljeg progresije bolesti kod pacijenata oboljelih od multiple skleroze

Ivana Lapić, Ljiljana Zaninović, Željka Vogrinc, Milica Trbojević-Čepe

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

Uvod: Multipla skleroza (MS) je kronična upalna bolest autoimune etiologije karakterizirana aktivacijom rezidentnih makrofaga u središnjem živčanom sustavu. Katalitička aktivnost hitotriozidaze pokazatelj je aktivacije makrofaga. Cilj ovog rada bio je ispitati povezanost intratekalne aktivnosti hitotriozidaze sa stupnjem onesposobljenosti bolesnika oboljelih od multiple skleroze.

Ispitanici i metode: U istraživanje je uključeno 170 bolesnika oboljelih od MS podijeljenih u dvije skupine ovisno o težini neuroloških simptoma. Katalitička aktivnost hitotriozidaze u uzorcima likvora i seruma određena je fluorimetrijskim mjerenjem produkta enzimatske hidrolize 4-metilumbeliferona pri odgovarajućim valnim duljinama ekscitacije (365 nm) i emisije (450 nm). Omjer aktivnosti hitotriozidaze u likvoru i serumu korišten je kao pokazatelj intratekalne u odnosu na perifernu aktivnost. Razlika između skupina ispitana je neparametrijskim Mann-Whitney testom u statističkom programu MedCalc.

Rezultati: U skupini bolesnika s blagim neurološkim deficitima dobiven je medijan omjera aktivnosti hitotriozidaze 0,10 (95%CI 0,09-0,11) te 1,18 (95%CI 0,95-1,29) u skupini bolesnika s umjerenom i teškom onesposobljenosti za samostalan život. Utvrđeno je postojanje statistički značajne razlike ($P < 0,001$) u intratekalnoj katalitičkoj aktivnosti hitotriozidaze između dviju ispitivanih skupina. Dobiveni rezultati ukazuju na povezanost intratekalne aktivnosti hitotriozidaze sa stupnjem neuroloških deficita.

Zaključak: Rezultati ovog rada potvrđuju važnu ulogu urođenog imunološkog sustava u patogenezi multiple skleroze. Značajan porast intratekalne aktivnosti hitotriozidaze utvrđen je kod pacijenata s teškim fizičkim i kognitivnim ograničenjima što ovaj biljeg čini potencijalno korisnim pokazateljem progresije bolesti kod bolesnika s multiplom sklerozom. Potrebno je provesti daljnja istraživanja koja uključuju detaljnu kliničku anamnezu u svrhu utvrđivanja optimalnih granica odluke.

e-adresa: ivana.lapic@hotmail.com

J07

Intrathecal chitotriozidase activity as a potential biomarker of disease progression in patients with multiple sclerosis

Ivana Lapić, Ljiljana Zaninović, Željka Vogrinc, Milica Trbojević-Čepe

Department of Laboratory Diagnostics, University Hospital Centre Zagreb, Zagreb, Croatia

Introduction: Multiple sclerosis (MS), as an immune-mediated inflammatory disease, is characterized by the activation of resident macrophages in the central nervous system. Chitotriozidase activity is considered to be a biochemical marker of macrophage activation. The aim of our study was to assess the correlation of intrathecal chitotriozidase activity with the extent of disability symptoms in patients suffering from MS.

Subjects and Methods: The study included 170 MS patients classified into two groups according to the severity of neurological disability. Chitotriozidase activity in cerebrospinal fluid and serum samples was determined by measuring the enzymatic hydrolysis product 4-methylumbelliferone fluorimetrically at specified excitation (365 nm) and emission (450 nm) wavelengths. Chitotriozidase ratio (CSF Chit/Serum Chit) was used as the indicator of intrathecal rather than peripheral activity. Statistical analysis was performed using MedCalc and non-parametric Mann-Whitney test was used to assess differences between groups.

Results: The median of chitotriozidase activity ratio was 0.10 (95%CI 0.09-0.11) in the group of patients with minimal disability or abnormal neurological signs and 1.18 (95%CI 0.95-1.29) in patients experiencing moderate or severe disability, showing statistically significant difference ($P < 0.001$). Our results show that a higher chitotriozidase activity ratio is associated with disability accumulation.

Conclusion: Our study underlines the importance of the innate immune response in the pathogenesis of multiple sclerosis. A significant increase of intrathecal chitotriozidase activity was found in severely disabled patients with limited physical and cognitive functions. Therefore, chitotriozidase activity ratio could be used as a potential biomarker of disease progression in patients with multiple sclerosis. Further investigations with detailed clinical data should be performed in order to establish optimal discrimination criteria.

e-mail: ivana.lapic@hotmail.com

J08

Prikaz slučaja povišenih troponina-I određivanih visokoosjetljivim testom hsTnI kod pacijenta u akutnim stanjima

Nena Peran, Lada Surjan, Dijana Pamuković Jaram, Željana Reškov, Davorka Sladić

Biokemijsko-hematološki laboratorij, Opća bolnica Šibensko-kninske županije, Šibenik, Hrvatska

Uvod: Troponin-I (TnI) je osjetljiv biljeg oštećenja miokarda i ima veliko značenje u dijagnozi AIM. Iako povišene vrijednosti hsTnI u krvi odražavaju oštećenje miokarda, one ne ukazuju na mehanizam koji izaziva oštećenje. Cilj rada bio je prikazati slučajeve svih povišenih hsTnI koji su u akutnim stanjima primljeni na hitni bolnički prijem tijekom 20 dana korištenja novog hsTnI testa.

Materijali i metode: U ispitivanje je uključeno 67 pacijenata (33 žene, medijan 83 god. i 34 muškarca medijan 78 god.) sa povišenim hsTnI. U 25 ispitanika je dijagnosticiran AIM. 42 ispitanika (22 žene, medijan dobi 86 god; 20 muškaraca, medijan dobi 80,5 godina) nije imalo znakove akutnog koronarnog sindroma. TnI je određivan ARCHITECT STAT High Sensitive Troponin-I testom na Architect i 1000 analizatoru.

Rezultati: Kod pacijenata sa AIM, zabilježen je značajan porast ili pad hsTnI u razmaku od 3-12 h. Kod 10 ispitanika prvo mjerenje je bilo >10×99te percentile. Kod 3 ispitanika vrijednost hsTnI je samo u jednom mjerenju prešla 99tu percentilu. Kod 39 pacijenata bez znakova AIM nije bilo značajnog pada ili porasta hsTnI u razmaku od 3-14 h. Kod 2 slučaja zabilježen je značajniji porast, a kod jednog značajniji pad. Kod 10 pacijenata prvo mjerenje je bilo >10×99te percentile.

Zaključak: Visoko osjetljivi hsTnI je vrlo osjetljivi biomarker oštećenja stanica miokarda, koje je često, ali ne i uvijek povezano s AIM. Omogućava mjerenje niskih razina TnI, te može detektirati njegov porast iznad 99te percentile normalne referentne populacije unutar 3 h nakon početka boli u prsima. Dokaz porasta i/ili pada vrijednosti hsTnI je potreban za razlikovanje AIM od kroničnog oštećenja miokarda. Vrijednosti hsTnI koje mogu biti značajno povišene, pa i u razinama koje su prisutne kod pacijenata s AIM, ali se ne mijenjaju akutno ili imaju trend promjene bez kliničkih znakova ishemije, zahtijevaju utvrđivanje drugih dijagnoza koje mogu biti povezane sa oštećenjem miokarda.

e-adresa: nena.peran1@gmail.com

J08

Case report of high values of troponin-I using high sensitive troponin-I test on patients in acute conditions

Nena Peran, Lada Surjan, Dijana Pamuković Jaram, Željana Reškov, Davorka Sladić

Laboratory of Biochemistry and Hematology, General Hospital Šibenik, Šibenik, Croatia

Introduction: Troponin-I (TnI) is a sensitive marker of myocardial injury which plays great role in AIM diagnosis. Although elevated hsTnI values indicate myocardial injury, they don't indicate the mechanism of injury. Our goal was to show all cases of elevated TnI values in patients admitted through ER, in 20 days period, using new ARCHITECT STAT High Sensitive Troponin-I assay.

Materials and Methods: This study included 67 patients (33 women, age median 83 years and 34 men, age median 78 years) with elevated hsTnI. 25 patients were diagnosed with AIM. 42 patients (22 women, age median 86 years; 20 men, age median 80.5 years) didn't show signs of acute coronary syndrome. ARCHITECT STAT High Sensitive Troponin-I assay was used for TnI quantification on Architect i1000 analyser.

Results: Patients diagnosed with AIM showed a significant rise/fall of hsTnI levels, within 3-12 hours. In 10 patients the first measured value was >10×99th percentile. In 3 patients only one hsTnI level was over 99th percentile. 39 patients, who didn't show signs of AIM, didn't have a significant rise/fall in hsTnI within 3-14 hours. 2 patients showed a significant rise, and 1 showed a significant fall. In 10 patients the first measurement was >10×99th percentile.

Conclusion: High sensitive hsTnI is very sensitive biomarker of myocardial injury, which is often, but not always, connected with AIM. It can detect very low TnI levels. It can also detect TnI levels >99th percentile of a healthy population, within 3 h after the onset of chest pain. The rise and/or fall of TnI levels is the evidence for AIM and chronic myocardial injury differentiation. hsTnI levels can be significantly elevated, even similar to AIM values. If these values don't change significantly and there are no clinical signs of ischemic injury, other diagnoses, connected with myocardial injury, should be considered.

e-mail: nena.peran1@gmail.com

J09

Serološki testovi u selektivnoj IgA deficijenciji: pokazatelj uspješnosti provođenja dijete bez glutena u celijakiji – prikaz slučaja

Mirjana Fijačko¹, Igor Marjanac², Jasna Pavela¹, Blaženka Dobrošević¹, Silvija Pušeljić², Vatroslav Šerić¹

¹Odjel za kliničku laboratorijsku dijagnostiku, Klinički bolnički centar Osijek, Osijek, Hrvatska

²Klinika za pedijatriju, Klinički bolnički centar Osijek, Osijek, Hrvatska

Uvod: Procjena uspješnosti liječenja celijakije u djece na bezglutenskoj dijeti temelji se na poboljšanju kliničke slike i normalizaciji seroloških testova: antitijela na tkivnu transglutaminazu klase IgA (anti-tTG IgA) i antitijela na deaminirani gliadinski peptid klase IgG (anti-dGp IgG). Nedavne studije su pokazale da serološki testovi nisu u korelaciji sa oporavkom duodenalne mukoze. U djece sa selektivnom IgA deficijencijom (IgA <0,07 g/L) serološki testovi koji se temelje na IgA specifičnim antitijelima su negativni, u tom slučaju dijagnostika se proširuje na testove koji se temelje na IgG specifičnim antitijelima. Međutim serološki testovi temeljeni na IgG specifičnim antitijelima (anti-tTG, anti-dGp) mogu biti perzistentno povišeni unatoč histološkom oporavku. Kroz prikaz slučaja cilj je pokazati da li serološki testovi celijakije pokazuju oporavak duodenalne mukoze u bezglutenskoj dijeti koja se u pravilu provodi najmanje 12 mjeseci.

Ispitanici i metode: Djevojčici u dobi od 10 godina dijagnosticiran je inzulin ovisan dijabetes i celijakija. Od tada prima propisanu inzulinsku terapiju, uz adekvatnu dijabetičku i bezglutensku dijetu. Koncentracija IgA izmjerena je imunonefelometrijskom metodom na SIEMENS ProSpec Nephelometru. Seroški testovi rađeni su multiplex tehnologijom na Luminex 200 analizatoru komercijalnim kitom BMD.

Rezultati: U skladu sa niskom koncentracijom IgA (IgA <0,066 g/L; referentna vrijednost 0,91-2,55) titar anti-tTG IgA i anti-dGp IgA u vrijeme postavljanja dijagnoze bio je nizak. Međutim titar anti-tTG IgG (118 AU/ml) i anti-dGp IgG (52 AU/ml) bio je visok (referentna vrijednost <15). Nakon dvije godine provođenja bezglutenske dijete titar anti-tTG IgA i anti-dGp IgA je očekivano nizak, a titar anti-tTG IgG

J09

Serological tests in selective IgA deficiency: gluten-free diet performance indicator in celiac disease - a case report

Mirjana Fijačko¹, Igor Marjanac², Jasna Pavela¹, Blaženka Dobrošević¹, Silvija Pušeljić², Vatroslav Šerić¹

¹Department of Clinical Laboratory Diagnostics, Clinical Hospital Centre Osijek, Osijek, Croatia

²Pediatric Clinic, Clinical Hospital Centre Osijek, Osijek, Croatia

Introduction: Performance evaluation of treatment of celiac disease in children on gluten free diet is based on the improvement of the clinical picture and the normalization of serology: IgA antibodies against tissue transglutaminase (anti-tTG IgA) and IgG antibodies against deaminated gliadin peptide (anti-dGp IgG). Recent studies have shown that serological tests do not correlate with the recovery of the duodenal mucosa. In children with selective IgA deficiency (IgA <0.07 g/L), a serological test based on IgA-specific antibodies are negative. For those cases diagnostic procedure includes test based on IgG-specific antibodies. However, serological tests based on IgG-specific antibodies (anti-tTG, anti-dGp) can be elevated despite histological recovery. Intention of this case report is to show whether serologic tests for celiac disease show recovery duodenal mucosa in gluten free diet, carried out for at least 12 months.

Subjects and Methods: 10 year old girl was diagnosed insulin-dependent diabetes and celiac disease. Since then receives insulin therapy with adequate diabetic and gluten-free diet. IgA was measured immunonephelometrically on SIEMENS ProSpec Nephelometer. Serological tests were performed on the Luminex 200 analyzer with multiplex technology on commercial BMD kits.

Results: In accordance with the low concentration of IgA (IgA <0.066 g/L, reference value 0.91-2.55) titer of anti-tTG IgA and anti-dGp IgA at the time of diagnosis was low. However, titers of anti-tTG IgG (118 AU/ml) and anti-dGp IgG (52 AU/ml) was high (reference value <15). After two years gluten-free diet, titer of anti-tTG IgA and anti-dGp IgA was low and the titer of anti-tTG IgG (86 AU/ml) and anti-dGp IgG (40 AU/

(86 AU/ml) i anti-dGp IgG (40 AU/ml) još uvijek je visok, premda nešto niži u odnosu na ranije vrijednosti.

Zaključak: Serološki markeri celijakije u ovom prikazu ne pokazuju oporavak duodenalne mukoze u bezglutenskoj dijeti. Definitivan odgovor dala bi ponovljena biopsija, samo pod pretpostavkom da je dijeta pravilno provedena.

e-adresa: fjacko.mirjana@kbo.hr

J10

Značaj određivanja srčanog visoko osjetljivog troponina I u koronarnoj i nekoronarnoj bolesti

Andrea Radeljak¹, Ingrid Prkačin², Dean Mileta², Ivona Herceg¹, Jelena Starčić¹, Sonja Perkov¹

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

²Klinika za unutarnje bolesti, Klinička bolnica Merkur, Zagreb, Hrvatska

Uvod: Uvođenjem srčanog visoko osjetljivog troponina I (hsTnI) u kliničku primjenu nađeno je da se povišene koncentracije, iznad gornje granice referentnog intervala (muškarci <34,2 ng/L; žene <15,6 ng/L), javljaju u koronarnoj i nekoronarnoj bolesti. Cilj ovog rada bio je odrediti važnost koncentracijskih razina hsTnI obzirom na dijagnozu i kliničku sliku, te odrediti granicu kvantifikacije za hsTnI na primijenjivanom imunokemijskom analizatoru Abbott Architect i1000SR.

Materijali i metode: Retrospektivnom analizom obuhvaćena su ukupno 54 bolesnika: 19 s koronarnom bolesti (10 s anginom pectoris i 9 s akutnim transmuralnim infarktom miokarda) i 35 s nekoronarnom bolesti za koje je provedeno minimalno inicijalno mjerenje i jedno kontrolno mjerenje razine hsTnI. Koncentracija hsTnI određivana je kemiluminiscentnom imunokemijskom metodom na mikročesticama (CMIA). Granica kvantifikacije (LoQ) određivana je prema protokolu CLSI EP17-A.

Rezultati: U skupini s koronarnom bolesti maksimalna koncentracijska razina hsTnI bila je izmjerena kod bolesnika s akutnim infarktom miokarda (186134,0 ng/L), a u skupini nekoronarne bolesti kod bolesnika

ml) was high, although lower compared to the previous value.

Conclusion: The serological markers of celiac disease do not show the recovery of the duodenal mucosa in the gluten free diet. A definite answer would give biopsy, assuming that the diet is properly implemented.

e-mail: fjacko.mirjana@kbo.hr

J10

The significance of high sensitivity cardiac troponin I in coronary and non-coronary disease

Andrea Radeljak¹, Ingrid Prkačin², Dean Mileta², Ivona Herceg¹, Jelena Starčić¹, Sonja Perkov¹

¹Department of Medical Biochemistry and Laboratory Medicine, Merkur University Hospital, Zagreb, Croatia

²Department of Internal Medicine, Merkur University Hospital, Zagreb, Croatia

Introduction: Introducing high-sensitivity cardiac troponin I (hsTnI) in clinical use it has been found that elevated levels, above the upper limit of the reference interval (RI) (men <34.2 ng/L; women <15.6 ng/L), occur in coronary and non-coronary disease. The aim of this study was to determine the importance of hsTnI levels regarding the diagnosis and clinical condition and determine the limit of quantification for the hsTnI on the analyzer Abbott Architect i1000SR.

Materials and Methods: Retrospective analysis included 54 patients: 19 with coronary heart disease (10 with angina pectoris, 9 with acute transmural myocardial infarct), and 35 with non-coronary disease for which initial measurement and control measurement of the hsTnI level was conducted. Concentration of hsTnI was determined by a chemiluminescent microparticle immunoassay (CMIA). The limit of quantitation (LoQ) was determined according to CLSI protocol EP17-A.

Results: In the group with coronary heart disease the maximum concentration of hsTnI was measured in patients with acute myocardial infarct (186134.0 ng/L) and in the group of non-coronary disease

s aterosklerotskom perifernom bolesti (4822,8 ng/L). Prema dijagnozama dobivene su sljedeće koncentracijske razine koje su prikazane kao medijan i raspon (ng/L) za inicijalno/kontrolno mjerenje: akutni transmuralni infarkt miokarda (N=9): 269,9(19,6-4055,8)/903,8(35,8-186134,0); angina pectoris (N=10): 97,8(10,5-1477,5)/82,7(7,2-1363,3); fibrilacija/undulacija atrijska (N=12): 20,3(5,2-282,2)/21,6(4,5-271,6); aterosklerotska periferna bolest (N=5): 427,9(3,0-4822,8)/2081,6(3,3-4695,7); šećerna bolest (N=7): 22,3(1,3-73,3)/20,1(1,9-80,4); kronična bubrežna bolest (N=7): 118,9(49,9-163,9)/83,9(25,9-163,0); esencijalna hipertenzija (N=4): 12,25(3,3-16,7)/14,45(4,9-33,1). Verificirana je granica kvantifikacije 4,71 ng/L uz KV% 8,41%.

Zaključak: Kvantifikacijom vrlo niskih koncentracija hsTnI povećava se mogućnost češćeg i ranijeg otkrivanja akutne koronarne bolesti uz obvezno praćenje dinamike promjena u odnosu na inicijalne vrijednosti. Dobiveni preliminarni rezultati pokazuju povišene koncentracijske razine u odnosu na gornju granicu referentnog intervala ovisno o spolu i u koronarnoj i u nekoronarnoj bolesti te se nalaz hsTnI mora uvijek razmotriti u kontekstu cjelokupne kliničke slike.

e-adresa: radeljak.andrea@gmail.com

in patients with peripheral atherosclerotic disease (4822.8 ng/L). For the following diagnoses the obtained concentration levels, presented as median and range (ng/L) for initial/control test were: acute transmural myocardial infarct (N=9): 269.9(19.6-4055.8)/903.8(35.8-186134.0); angina pectoris (N=10): 97.8(10.5-1477.5)/82.7(7.2-1363.3); atrial fibrillation waveform (N=12): 20.3(5.2-282.2)/21.6(4.5-271.6); peripheral atherosclerotic disease (N=5): 427.9(3.0-4822.8)/2081.6(3.3-4695.7); diabetes mellitus (N=7): 22.3(1.3-73.3)/20.1(1.9-80.4); chronic renal disease (N=7): 118.9(49.9-163.9)/83.9(25.9-163.0); essential hypertension (N=4): 12.25(3.3-16.7)/14.45(4.9-33.1). LoQ was verified at the concentration of 4.71 ng/L with CV% 8.41%.

Conclusion: Quantification of very low concentrations hsTnI increases the possibility of more frequent and earlier detection of acute coronary disease with mandatory monitoring the dynamics of change in relation to the initial value. The obtained preliminary results show elevated levels of concentration, regarding to the upper limit of RI depending on gender, in coronary and non-coronary disease. Therefore, hsTnI level always must be interpreted considering the overall clinical condition.

e-mail: radeljak.andrea@gmail.com

J11

Povezanost serumske aktivnosti hitotriozidaze i LDL fenotipa kod pacijenata sa simptomima metaboličkog sindroma

Martina Horvat, Željka Vogrinc, Milica Trbojević-Čepe

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

Uvod: Centralna pretilost, povišeni indeks tjelesne mase i krvni tlak, dislipidemija te oštećena tolerancija glukoze su klinički simptomi metaboličkog sindroma koji se povezuje s povećanim rizikom za razvoj ateroskleroze. Kod takvih pacijenata, prevalencija malih, gustih, aterogenih LDL čestica (fenotip B) učestalija je nego kod zdravih osoba. LDL fenotip B je dodatni faktor kardiovaskularnog rizika dok je fenotip A

J11

Relationship between serum chitotriosidase activity and LDL phenotype in patients with developing metabolic syndrome

Martina Horvat, Željka Vogrinc, Milica Trbojević-Čepe

Department of Laboratory Diagnostics, University Hospital Centre Zagreb, Zagreb, Croatia

Introduction: Central obesity, increased body mass index, hypertension, impaired glucose tolerance and dyslipidemia are factors of metabolic syndrome which are associated with increased risk of atherosclerosis. In patients with metabolic syndrome, prevalence of atherogenic, small dense low-density lipoprotein (LDL) particles (LDL phenotype B) is found more frequently than in healthy individuals. LDL

karakterističan za zdrave osobe. Osim vaskularnog i metaboličkog, imunološki sustav također ima važnu ulogu u aterosklerotičnim promjenama. Dokazana je povišena aktivnost hitotriozidaze koju luče makrofagi u aterosklerotičnim lezijama. Cilj istraživanja bio je ispitati aktivnost hitotriozidaze u serumu kod pacijenata s različitim LDL fenotipovima. Postavljena hipoteza bila je da će među ispitanicima sa simptomima metaboličkog sindroma osobe s LDL fenotipom B imati više vrijednosti aktivnosti hitotriozidaze u serumu.

Ispitanici i metode: LDL fenotip i aktivnost hitotriozidaze određeni su u serumu 91 ispitanika (22-81 godina) koji su imali prisutna barem dva simptoma metaboličkog sindroma. LDL fenotip je određen horizontalnom elektroforezom u gradijentnom poliakrilamidnom gelu bez primjene denaturirajućih uvjeta. Aktivnost hitotriozidaze u serumu izmjerena je fluorometrijskim određivanjem produkta enzimske hidrolize, 4-metilumbeliferona. Razlike u aktivnostima hitotriozidaze kod ispitanika s LDL fenotipom A i B ispitane su neparametrijskim Mann-Whitney testom. $P < 0,05$ smatrala se statistički značajnom.

Rezultati: Medijan serumske aktivnosti hitotriozidaze kod ispitanika s fenotipom A (N=64) iznosio je 118 mU/mL (interkvartilni raspon, IKR=82) te kod ispitanika s fenotipom B (N=27) 179 mU/mL (IKR=161). Utvrđeno je da je aktivnost hitotriozidaze u serumu ispitanika s fenotipom B statistički viša nego kod ispitanika s fenotipom A ($P=0,03$).

Zaključak: Statistički viša aktivnost hitotriozidaze u serumu primijećena kod ispitanika s LDL fenotipom B u odnosu na LDL fenotip A upućuje na moguću povećanu aktivaciju makrofaga te razvijeniju ateroskleroze. Stoga bi serumska hitotriozidaza mogla biti koristan biljeg u procjeni rizika od ateroskleroze.

e-adresa: martina.horvat001@gmail.com

phenotype B is additional cardiovascular risk factor while phenotype A is typical for healthy individuals. Besides vascular and metabolic components, immune system also plays important role in atherosclerotic lesions. It has been found that chitotriosidase secreted by macrophages has increased activity in atherosclerotic lesions. The aim of this study was to investigate serum chitotriosidase activity in subjects with different LDL phenotypes. Our hypothesis was that, among subjects with developing metabolic syndrome, those with LDL phenotype B would present higher chitotriosidase activity.

Subjects and Methods: LDL phenotype and chitotriosidase activity were determined in sera of 91 subjects (22-81 years) with at least two factors of metabolic syndrome. LDL phenotype was assessed by horizontal electrophoresis in non-denaturing gradient polyacrylamide gel. Chitotriosidase activity was determined by measuring enzymatic hydrolysis product 4-methylumbelliferone fluorimetrically. Differences in chitotriosidase activities between subjects with LDL phenotype A and B were tested using non-parametric Mann-Whitney test. $P < 0.05$ was considered statistically significant.

Results: Serum chitotriosidase activity median in subjects with phenotype A (N=64) was 118 mU/mL (IQR=82) and in subjects with phenotype B (N=27) it was 179 mU/mL (IQR=161). Serum chitotriosidase activities were statistically higher in LDL phenotype B in comparison to phenotype A ($P=0.03$).

Conclusion: Significantly higher serum chitotriosidase activity detected in subjects with LDL phenotype B in comparison to LDL phenotype A indicates possible increased macrophage activation and more developed atherosclerotic changes. Therefore, assessment of chitotriosidase could be a useful marker for estimation of atherosclerotic risk.

e-mail: martina.horvat001@gmail.com

J12

MakroCK-tip 1 izoenzim - prikaz slučaja

Marina Pavić¹, Lara Milevoj Kopčinović¹, Dragana Šegulja²,
Danica Matišić²

¹Klinički zavod za kemiju, Klinički bolnički centar Sestre milosrdnice, Zagreb, Hrvatska

²Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku, Klinički bolnički centar Zagreb, Zagreb, Hrvatska

Uvod: Rijetki uzrok visoke aktivnosti enzima kreatin kinaze (CK) je prisutnost makroenzima (makro-CK). Kako povećana aktivnost enzima ne korelira sa kliničkom slikom, prisutnost makroCK može znatno otežati interpretaciju nalaza bolesnika. Cilj ovog rada je prikazati rezultate laboratorijskih nalaza bolesnice s dokazanim makroCK-tip 1 izoenzimom.

Ispitanici i metode: Bolesnica (58 godina) je primljena u Internističku ambulantu zbog pritiska u grudima i vrtoglavice. Prema anamnezi je posljednjih mjeseci imala povišen krvni tlak, povišenu glukozu natašte i postprandijalno, a zadnjih nekoliko dana pojavu suhog kašlja. Prisutni su simptomi gastroezofagealne refluksne bolesti. Učinjen je EKG i uzorkovana krv za određivanje aktivnosti enzima CK, aspartat-aminotransferaze (AST), alanin-aminotransferaze (ALT), izoenzima kreatin kinaze (CK-MB), kolesterola, triglicerida, troponina I (Tnl), hemoglobina A1c (HbA1c) te tireotropina (TSH). CK, AST, ALT su određeni preporučanim metodama; CK-MB, trigliceridi i kolesterol metodom suhe kemije; HbA1c, Tnl i TSH imunokemijskim metodama. Prisutnost makroCK utvrđena je precipitacijskom metodom uz polietilen glikol (PEG) i elektroforezom na agarozu.

Rezultati: Po primitku bolesnica je imala povišene aktivnosti CK=264 U/L, CK-MB=86 U/L, te omjera CK-MB/CK=32%, blago povišene AST=32 U/L, ALT=57 U/L, te povišene koncentracije HbA1c=54 mmol/mol, triglicerida=2,0 mmol/L, kolesterola=7,8 mmol/L i TSH=4,63 mIU/L. Tnl je bio negativan (<10 ng/L), a nalaz EKG-a uredan. Kontrolnim pregledom nakon 42 dana utvrđen je porast enzima (CK=363, CK-MB=185, CK-MB/CK=51%). Nakon precipitacije PEG-om ostatna aktivnost CK-a od 50,2% ukazala je na prisutnost makroCK, a elektroforezom je utvrđena prisutnost makroCK-tip1 (21,1%).

Zaključak: Povišeni CK, CK-MB, kao i omjer CK-MB/CK veći od 25% uz negativan Tnl, uredan EKG i nespecifične simptome upućuju na moguću prisutnost

J12

MacroCK-type 1 isoenzyme - a case report

Marina Pavić¹, Lara Milevoj Kopčinović¹, Dragana Šegulja²,
Danica Matišić²

¹University Department of Chemistry, University Hospital Centre Sestre Milosrdnice, Zagreb, Croatia

²Department of Laboratory Diagnostics, University Hospital Centre Zagreb, Zagreb, Croatia

Introduction: A rare cause of elevated creatine kinase (CK) activity is the presence of macroenzymes (macroCK). MacroCK complicates laboratory results' interpretation because elevated enzyme activity does not correlate with clinical presentation. Our aim was to report a case of macroCK-type 1 isoenzyme.

Subjects and Methods: A female patient (58 years) was admitted to the internal clinic with chest discomfort and dizziness. The patients' history revealed high blood pressure, high fasting and postprandial glucose in the last few months and dry cough present for the last few days. Symptoms of gastroesophageal reflux disease were also present. An ECG and venous blood sampling were performed for CK, aspartate-aminotransferase (AST), alanine-aminotransferase (ALT), creatine kinase MB isoenzyme (CK-MB), cholesterol, triglycerides, troponin I (Tnl), hemoglobin A1c (HbA1c) and thyrotropin (TSH) determination. CK, AST, ALT were determined using recommended methods; CK-MB, triglycerides and cholesterol using dry-chemistry methods; HbA1c, Tnl and TSH using immunoassays. MacroCK was determined by polyethylene glycol (PEG) precipitation followed by agarose electrophoresis.

Results: Upon admission, the patients' laboratory results were: elevated CK=264 U/L, CK-MB=86 U/L and CK-MB/CK=32%; mildly elevated AST=32 U/L and ALT=57 U/L; elevated HbA1c=54 mmol/mol, triglycerides=2.0 mmol/L, cholesterol=7.8 mmol/L and TSH=4.63 mIU/L. Tnl was negative (<10 ng/L) and the ECG normal. Repeated laboratory results after 42 days revealed increased enzyme activities (CK=363, CK-MB=185, CK-MB/CK=51%). After PEG precipitation, residual CK activity of 50.2% was indicative of macroCK presence. MacroCK-type 1 isoenzyme (21.1%) was confirmed by electrophoresis.

Conclusion: Elevated CK, CK-MB, and ratio of CK-MB/CK greater than 25% with negative Tnl, normal ECG findings and non-specific symptoms indica-

makroCK u bolesnice. Rano prepoznavanje moguće prisutnosti makroenzima i njegovo dokazivanje važno je kod postavljanja ispravne dijagnoze, pri čemu se izbjegava daljnja nepotrebna dijagnostička obrada i dodatni troškovi liječenja. Budući da su dosadašnji klinički podaci o mogućem dijagnostičkom značenju makroCK vrlo oskudni, bitno ih je pratiti i dokumentirati.

e-adresa: marina.pavic@kbcsm.hr

J13

Nivo proadrenomedulina u ranoj fazi septičkog šoka

Alessandra Barassi¹, Raffaele Pezzilli², Luca Massaccesi³, Giancarlo Goi³, Angela Leone⁴, Clara Anna Linda Damele⁴, Rossana Stefanelli⁴, Gian Vico Melzi d'Eril¹

¹Department of Health's Sciences, University of Milan, Milan, Italy

²Pancreas Unit, Department of Digestive System, Sant'Orsola-Malpighi Hospital, Bologna, Italy

³Department of Biomedical, Surgical and Dental Sciences, University of Milan, Milan, Italy

⁴Lab of Clinical Chemistry, San Paolo Hospital, Milan, Italy

Uvod: Dokazano je kako je proadrenomedulin dobar biljeg koji ukazuje na ozbiljnost septičkog šoka. Međutim, ne postoje podaci o ranim promjenama koncentracije proadrenomedulina u serumu bolesnika s ovom patologijom.

Materijali i metode: U istraživanju je praćen dvadeset i jedan bolesnik sa septičkim šokom, a kontrolna skupina se sastojala od dvadeset i jednog zdravog ispitanika. Određene su koncentracije proadrenomedulina, prokalcitonina, feritina, CRP-a i IL-6 u serumu svim ispitanicima kod početnog promatranja. Bolesnici sa septičkim šokom također su praćeni i nakon 24 i 48 sati.

Rezultati: Tijekom istraživanja koncentracije proteina akutne faze su bile značajno više u bolesnika sa septičkim šokom nego u kontrolnoj skupini ($P < 0,001$). Prokalcitonin se jedino značajno smanjio trećeg dana promatranja u odnosu na prvi dan ($P = 0,002$) i drugi dan ($P = 0,006$). Proadrenomedulin ($P = 0,017$) i IL-6 ($P = 0,001$) pokazali su kako se površina ispod krivulje (AUC) značajno razlikuje od nulte

te the possible presence of macroCK. Early macroCK identification is important for correct diagnosis, it contributes to avoiding unnecessary diagnostic work-up and additional treatment costs. Since current data on macroCK diagnostic significance are scarce, it is essential to monitor and document this laboratory finding.

e-mail: marina.pavic@kbcsm.hr

J13

Proadrenomedullin levels in the early phase of septic shock

Alessandra Barassi¹, Raffaele Pezzilli², Luca Massaccesi³, Giancarlo Goi³, Angela Leone⁴, Clara Anna Linda Damele⁴, Rossana Stefanelli⁴, Gian Vico Melzi d'Eril¹

¹Department of Health's Sciences, University of Milan, Milan, Italy

²Pancreas Unit, Department of Digestive System, Sant'Orsola-Malpighi Hospital, Bologna, Italy

³Department of Biomedical, Surgical and Dental Sciences, University of Milan, Milan, Italy

⁴Lab of Clinical Chemistry, San Paolo Hospital, Milan, Italy

Introduction: It has been shown that proadrenomedullin is a good marker of the severity of septic shock. However, there are no data on the early changes in serum proadrenomedullin concentrations in patients with this pathology.

Materials and Methods: Twenty-one patients with septic shock and 21 healthy subjects studied as controls. Serum concentrations of proadrenomedullin, procalcitonin, ferritin, CRP and IL-6 were determined in all subjects at the initial observation. Patients with septic shock were also studied after 24 and 48 hours.

Results: The concentrations of the acute phase proteins were significantly higher in patients with septic shock than in the control subjects during the entire study period ($P < 0.001$). Only procalcitonin significantly decreased on the third day of observation with respect to both the first day ($P = 0.002$) and the second day ($P = 0.006$). Proadrenomedullin ($P = 0.017$) and IL-6 ($P = 0.001$) showed an AUC significantly different from the null hypothesis in differentiating the

hipoteze prilikom razlikovanja bolesnika koji su preživjeli i oni koji nisu preživjeli. Za procjenu smrtnosti osjetljivost i specifičnost za proadrenomedulin su bili 71,4% i 72,7%, dok za IL-6 osjetljivost je bila 92,9% i specifičnost 60,6%.

Zaključak: Proadrenomedulin je pouzdan prognostički biljeg u bolesnika sa šokom; daljnja istraživanja na većem broju bolesnika sa septičkim šokom će definitivno procijeniti može li proadrenomedulin zamijeniti trenutne prognostičke biljege u kritičnih bolesnika sa šokom nastalim zbog sepsa.

e-adresa: alessandra.barassi@unimi.it

J14

Produkti *Plasmodium falciparum* utječu na aktivnost glikohidrolaze vezane na membranu humanih eritrocita

Gian Vico Melzi d'Eril¹, Luca Massaccesi², Giancarlo Goi², Nadia Papini³, Silvia Parapini⁴, Donatella Taramelli⁴, Angela Leone⁵, Clara Anna Linda Damele⁵, Rossana Stefanelli⁵, Nicoletta Basilico², Alessandra Barassi¹

¹Department of Health's Sciences, University of Milan, Milan, Italy

²Department of Biomedical, Surgical and Dental Sciences, University of Milan, Milan, Italy

³Department of Medical Biotechnology and Translational Medicine, University of Milan, Milan, Italy

⁴Department of Pharmacological and Biomolecular Sciences, University of Milan, Milan, Italy

⁵Lab of Clinical Chemistry, San Paolo Hospital, Milan, Italy

Uvod: *Plasmodium falciparum* (Pf) malarija uzrokuje prosječno 600,000 smrti godišnje zbog komplikacija koje uključuju cerebralnu malariju i tešku anemiju. Anemija se javlja kao posljedica parazitom inducirane hemolize, diserythropoeze i smanjene deformabilnosti eritrocita, ubrzanog starenja i uklanjanja neinficiranih eritrocita. Promjene svojstva membrane eritrocita mogu se pripisati povećanom oksidativnom stresu koji je uzrokovan parazitarnom infekcijom, a uključuje produkte hema kao što su Fe(III)-protoporfirin IX (hematin) ili hemozoin, koji su prisutni u visokoj koncentraciji u plazmi pacijenta oboljelih od malarije. Utvrđeno je da nekoliko glikohidrolaza vezanih na membranu humanih eritrocita ima ulogu u ranoj fazi patoloških promjena membrane, što ukazuje na

patients who survived and those who did not. The sensitivity and specificity of proadrenomedullin in the assessment of death were 71.4% and 72.7%, respectively, while IL-6 had a sensitivity of 92.9% and a specificity of 60.6%.

Conclusion: Proadrenomedullin is a reliable prognostic marker in patients with shock; further studies on a more consistent number of septic patients will definitively assess whether proadrenomedullin may replace the current prognostic markers in critically ill patients with shock due to sepsis.

e-mail: alessandra.barassi@unimi.it

J14

Human erythrocyte membrane-bound glycohydrolases activity is affected by *Plasmodium falciparum* products

Gian Vico Melzi d'Eril¹, Luca Massaccesi², Giancarlo Goi², Nadia Papini³, Silvia Parapini⁴, Donatella Taramelli⁴, Angela Leone⁵, Clara Anna Linda Damele⁵, Rossana Stefanelli⁵, Nicoletta Basilico², Alessandra Barassi¹

¹Department of Health's Sciences, University of Milan, Milan, Italy

²Department of Biomedical, Surgical and Dental Sciences, University of Milan, Milan, Italy

³Department of Medical Biotechnology and Translational Medicine, University of Milan, Milan, Italy

⁴Department of Pharmacological and Biomolecular Sciences, University of Milan, Milan, Italy

⁵Lab of Clinical Chemistry, San Paolo Hospital, Milan, Italy

Introduction: *Plasmodium falciparum* (Pf) malaria causes about 600,000 deaths each year because of complications including cerebral malaria and severe anemia. Anemia is due to parasite induced hemolysis, diserythropoiesis and reduced deformability, accelerated senescence and removal of uninfected red blood cells (RBC). Modifications of RBC membrane's properties can be ascribed to increased oxidative stress caused by parasite heme products such as Fe(III)-protoporphyrin IX (hematin) or hemozoin, present at high concentration in the plasma of malaria patients. Several plasma membrane-bound glycohydrolases of human RBC were recognized to have a role in signaling early membrane alterations both in pathologies suggesting their use as mark-

mogućnost njihovog određivanja u plazmi kao markera staničnog oksidativnog stresa. Cilj ovog rada bilo je ispitati sposobnost produkta parazita malarije da promjene svojstva membrane eritrocita utjecajem na aktivnost glikohidrolaze.

Materijali i metode: Eritrociti donora inkubirani su 24 sata u supernatantu dobivenom iz kulture Pf-a, koji je sadržavao produkte hema otpuštenih tijekom rasta parazita. Zatim su eritrociti tretirani sa različitim koncentracijama hematina (20-10-5 $\mu\text{g/ml}$) ili hemozoina (10-5-2,5 $\mu\text{g/ml}$) pročišćenim iz Pf kultura. Aktivnost heksosaminidaza, β -D- glukuronidaza, α -D- glukozidaza i kisele sialidaze određene su fluorometrijskom metodom; fluidnost membrane metodom fluorescentne anizotropije.

Rezultati: Snižena aktivnost ispitivanih enzima uočena je nakon inkubacije eritrocita sa supernatantom dobivenog iz kultura različitih Pf sojeva. Značajna inhibicija, koja je ovisila o primijenjenoj dozi, uočena je nakon tretmana sa hematinom ili hemozoinom. Kod primjene najviše doze, hematin je inducirao sniženje aktivnosti enzima između 66% i 55%. Također je uočeno i sniženje fluidnosti membrane eritrocita nakon tretmana hematinom ili hemozoinom.

Zaključak: Sniženje aktivnosti glikohidrolaze i porast rigidnosti membrane u skladu su sa ubrzanim starenjem eritrocita, a smatra se i da su hem produkti parazita glavni čimbenici koje dovode do oštećenja membrana.

e-adresa: gianlodovico.melzi@unimi.it

ers of cellular oxidative stress. The present work was aimed to investigate the ability of malaria parasite products to alter RBC membrane by affecting glycohydrolases activity.

Materials and Methods: RBC from human donors were incubated for 24 hours with presence of supernatants, derived from Pf cultures, containing heme products released during parasite growth. Then RBC were treated with different concentrations of hematin (20-10-5 $\mu\text{g/ml}$) or hemozoin (10-5-2.5 $\mu\text{g/ml}$) purified from Pf cultures. Hexosaminidase, β -D-Glucuronidase, α -D-Glucosidase and acidic Sialidase activities were evaluated by fluorimetric assays; membrane fluidity by fluorescence anisotropy method.

Results: A decrease in the activity of the tested enzymes was observed after incubation of RBC with culture supernatants from different Pf strains. Moreover, a significant dose dependent inhibition was observed after treatment with either hematin or hemozoin. At the highest dose used, hematin induced a decrease in the activity of the enzymes between 65% and 55%. Likewise a decrease of RBC membrane fluidity was observed following treatment with hematin or hemozoin.

Conclusion: The decrease of glycohydrolases activity and the increase in membrane rigidity are in agreement with accelerated RBC senescence and the parasite heme products seem to be the main contributors to these membranes damages.

e-mail: gianlodovico.melzi@unimi.it

J15

Evaluacija koncentracije mijeloperoksidaze u plazmi pacijenta sa erektilnom disfunkcijom arteriogenog i ne-arteriogenog podrijetla

Alessandra Barassi¹, Elena Dozio², Monica Gioia Marazzi², Elena Vianello², Giovanni Maria Colpi³, Umberto Solimene^{2,4}, Clara Anna Linda Damele⁵, Angela Leone⁵, Rossana Stefanelli⁵, Massimiliano Marco Corsi Romanelli^{2,6}, Gian Vico Melzi d'Eril¹

¹Dipartimento di Scienze della Salute, Università degli Studi di Milano, Milano, Italy

²Dipartimento di Scienze Biomediche per la Salute, Cattedra di Patologia Clinica, Università degli Studi di Milano, Milano, Italy

³ISES – Istituto per la Sterilità e la Sessualità, Milano, Italy

⁴Centro di Ricerche in Bioclimatologia Medica, Biotecnologie e Medicine Naturali, Università degli Studi di Milano, Milano, Italy

⁵Laboratorio di Analisi, Ospedale San Paolo, Milano, Italy

⁶Servizio di Medicina di Laboratorio1-Patologia Clinica, Dipartimento dei Servizi Sanitari di Diagnosi e Cura-Medicina di Laboratorio, IRCCS Policlinico San Donato, Milano, Italy

Uvod: Disfunkcija endotela i remećenje signalnog puta dušikov oksid- ciklički gvanozin monofosfat (cGMP) smatraju se ranim mehanizmima koji dovode do razvoja erektilne disfunkcije (ED). Enzim mijeloperoksidaza (MPO) spada u skupinu hemoproteina i primarno je oslobađaju aktivirani neutrofila i monociti. Sudjelujući u oksidaciji različitih supstrata smatra se da pridonosi razvoju disfunkcije endotela te na taj način i razvoju ED. Koncentracija MPO i njezina korelacija sa različitim plazmatskim biomarkerima endotelne disfunkcije određeni su u uzorcima pacijenata sa ED arteriogenog (A-ED) i ne-arteriogenog podrijetla (NA-ED) sa ciljem utvrđivanja razlike između ispitivanih skupina.

Materijali i metode: Dijagnoza ED postavljena je primjenom Internacionalnog Indeksa Eretilne Funkcije, a etiologija primjenom color doplera penilnih arterija prije i nakon intrakavernozne injekcije prostaglandina E1. Koncentracija MPO, cGMP, ICAM-1, VCAM-1 i P-selektina u plazmi određena je enzim-imunokemijskom metodom.

Rezultati: Prilikom usporedbe, koncentracija MPO u skupini pacijenta s A-ED bila je značajno viša u odnosu na kontrolnu skupinu i skupinu pacijenata s NA-ED ($P < 0,05$). Koncentracija cGMP bila je niža u A-ED i u NA-ED skupini pacijenta, ali nije uočena razlika između dvije grupe pacijenta s ED-om. Koncentracija ICAM-1 bila je viša u A-ED grupi u odnosu

J15

Evaluation of plasma myeloperoxidase in patients with erectile dysfunction of arteriogenic and non-arteriogenic origin

Alessandra Barassi¹, Elena Dozio², Monica Gioia Marazzi², Elena Vianello², Giovanni Maria Colpi³, Umberto Solimene^{2,4}, Clara Anna Linda Damele⁵, Angela Leone⁵, Rossana Stefanelli⁵, Massimiliano Marco Corsi Romanelli^{2,6}, Gian Vico Melzi d'Eril¹

¹Dipartimento di Scienze della Salute, Università degli Studi di Milano, Milano, Italy

²Dipartimento di Scienze Biomediche per la Salute, Cattedra di Patologia Clinica, Università degli Studi di Milano, Milano, Italy

³ISES – Istituto per la Sterilità e la Sessualità, Milano, Italy

⁴Centro di Ricerche in Bioclimatologia Medica, Biotecnologie e Medicine Naturali, Università degli Studi di Milano, Milano, Italy

⁵Laboratorio di Analisi, Ospedale San Paolo, Milano, Italy

⁶Servizio di Medicina di Laboratorio1-Patologia Clinica, Dipartimento dei Servizi Sanitari di Diagnosi e Cura-Medicina di Laboratorio, IRCCS Policlinico San Donato, Milano, Italy

Introduction: Endothelial dysfunction and the disruption of the nitric oxide-cyclic guanosine monophosphate (cGMP) pathway have been considered the early mechanisms for the development of erectile dysfunction (ED). Myeloperoxidase (MPO), a heme-containing enzyme mainly released by activated neutrophils and monocytes, may contribute to endothelial dysfunction by promoting oxidation of different substrates and thus may play a role in ED. MPO level and its correlation with different plasma biomarkers of endothelial dysfunction were studied in patient with ED of arteriogenic (A-ED) and non-arteriogenic (NA-ED) to assess potential differences between the two ED subgroups.

Materials and Methods: Diagnosis of ED was based on the International Index of Erectile Function Score. Its etiology was classified with penile echo-color Doppler at baseline and after intracavernous injection of prostaglandin E1. MPO, soluble(s) cGMP, sICAM-1, sVCAM-1 and sP-Selectin were measured by enzyme-linked immunosorbent assay.

Results: MPO concentration in A-ED was significantly higher compared to control subjects and NA-ED patients ($P < 0.05$). Plasmatic cGMP level resulted lower both in A-ED and in NA-ED patients, whereas no difference has been observed between the two ED groups. sICAM-1 concentration resulted higher in A-ED compared both to controls and NA-ED. sV-

na NA-ED i kontrolnu skupinu. Koncentracija VCAM-1 bila je jednaka u kontrolnoj, A-ED i NA-ED skupini. Koncentracija P-selektina bila je viša u A-ED i u NA-ED skupini u odnosu na kontrolnu, ali nije uočena razlika između dvije ED skupine. Korelacijskom analizom dokazana je pozitivna korelacija između koncentracije MPO, ICAM-1 i P-selektina u plazmi.

Zaključak: MPO čini važnu poveznicu između procesa oksidacije, upale i kardiovaskularnih bolesti, ali predstavlja i potencijalni biomarker za razlikovanje dviju podskupina pacijenata sa ED-om. Kod pacijenta s ED-om, koncentracija cGMP-a mogla bi odražavati lokalnu disfunkciju u procesu signalnog prijenosa. Primjena cGMP-a kao potencijalnog markera u praćenju bolesti zahtjeva daljnje istraživanje.

e-adresa: alessandra.barassi@unimi.it

CAM-1 level was the same in controls, A-ED and NA-ED patients. sP-Selectin concentration resulted higher both in A-ED and in NA-ED patients than in controls, whereas no difference has been observed between the two ED groups. Correlation analysis indicated a positive correlation between plasmatic MPO, sICAM-1 and sP-Selectin levels.

Conclusion: MPO may represent an important link between oxidation, inflammation and cardiovascular diseases and may also represent a potential marker to distinguish between the two subgroups of ED patients. Moreover, in ED subjects circulating cGMP may reflect the local signaling dysfunction. The use cGMP as a potential marker for monitoring the disease needs further investigation.

e-mail: alessandra.barassi@unimi.it

J16

Rane razine retinol-vezujućeg proteina su povezane s promjenama rasta u djece čije su majke imale gestacijsku šećernu bolest

Gian Vico Melzi d'Eri¹, Gaia Francescato², Massimo Agosti², Luca Massaccesi³, Giancarlo Goi³, Clara Anna Linda Damele⁴, Angela Leone⁴, Rossana Stefanelli⁴, Carlo Agostoni⁵, Alessandra Barassi¹

¹Department of Health's Sciences, University of Milan, Milan, Italy

²Neonatology and NICU, Maternal and Child Department, Filippo Del Ponte Hospital, Varese, Italy

³Department of Biomedical, Surgical and Dental Sciences, University of Milan, Milan, Italy

⁴Lab of Clinical Chemistry, San Paolo Hospital, Milan, Italy

⁵Department of Clinical Sciences and Community Health, University of Milan, Milan, Italy

Uvod: Trenutno ne postoje biokemijski predskazatelji promjene rasta kod djece. Istražili smo da li su retinol-vezujući protein (RBP), dokozaheksaenska kiselina i inzulin (I), mjereni unutar 72 sata od rođenja povezani s promjenama rasta u djece čije su majke imale gestacijsku šećernu bolest (GDM).

Materijali i metode: 56 djece od kojih je 32 čije su majke liječene inzulinom (GDM-I) i 24 čije su majke liječene posebnom prehranom (GDM-D), procijenjeno je u razdoblju od 0, 1, 3, 6 i 12 mjeseci života.

Rezultati: Multivarijantnom regresijskom analizom uz primjenu generaliziranih procjenjujućih jednadžbi

J16

Early retinol-binding protein levels are associated with growth changes in infants born to diabetic mothers

Gian Vico Melzi d'Eri¹, Gaia Francescato², Massimo Agosti², Luca Massaccesi³, Giancarlo Goi³, Clara Anna Linda Damele⁴, Angela Leone⁴, Rossana Stefanelli⁴, Carlo Agostoni⁵, Alessandra Barassi¹

¹Department of Health's Sciences, University of Milan, Milan, Italy

²Neonatology and NICU, Maternal and Child Department, Filippo Del Ponte Hospital, Varese, Italy

³Department of Biomedical, Surgical and Dental Sciences, University of Milan, Milan, Italy

⁴Lab of Clinical Chemistry, San Paolo Hospital, Milan, Italy

⁵Department of Clinical Sciences and Community Health, University of Milan, Milan, Italy

Introduction: Biochemical predictors of infants' growth changes are not available. We tested whether retinol-binding protein (RBP), docosahexaenoic acid and insulin (I) measured within 72 h from birth are associated with growth changes in infants born to mothers with gestational diabetes mellitus (GDM).

Materials and Methods: Fifty six children, 32 born to diabetic mothers treated with insulin (GDM-I) and 24 born to diabetic mothers treated with diet (GDM-D), were evaluated at 0, 1, 3, 6 and 12 months of life.

Results: At multivariable regression performed using generalized estimating equations, early RBP lev-

utvrđeno je kako su rane koncentracije RBP i indeks tjelesne mase majki povezani s prosječnim promjenama težine dok su rane koncentracije RBP i koncentracije inzulina povezane s prosječnim promjenama dužine. Nije bilo razlika između GDM-I i GDM-D djece.

Zaključak: Rezultati ovog istraživanja ukazuju da rane koncentracije RBP-a mogu biti predskazatelji promjena rasta.

e-adresa: gianlodovico.melzi@unimi.it

J17 (Usmeno izlaganje)

Monoklonska gamapatija otkrivena pri pretraživanju na oligoklonski IgG tijekom dijagnostičke obrade multiple skleroze

Ines Vukasović¹, Andrea Tešija Kuna¹, Vanja Bašić Kes²,
Dubravka Čaržavec³, Nada Vrkić¹,

¹Klinički zavod za kemiju, Klinički bolnički centar Sestre Milosrdnice, Zagreb, Hrvatska

²Klinika za neurologiju, Klinički bolnički centar Sestre Milosrdnice, Zagreb, Hrvatska

³Klinika za unutarnje bolesti, Klinički bolnički centar Sestre Milosrdnice, Zagreb, Hrvatska

Uvod: Prikazati tri slučaja monoklonske gamapatije (MG) otkrivene pri pretraživanju na oligoklonski IgG (OlgG) tijekom dijagnostičke obrade multiple skleroze (MS).

Ispitanici i metode: Izoelektričnim fokusiranjem (IEF) parnih uzoraka likvora i seruma na agaroznom gelu uz imunofiksaciju (IF) s anti-IgG antitijelom (Sebia poluautomatski sustav za elektroforezu), u svrhu dokazivanja OlgG, obrađeno je 240 ispitanika s neurološkim smetnjama koje se mogu pripisati MS tijekom razdoblja od 1. ožujka 2014. do 1. ožujka 2015. Bolesnicima s tipom 5 (monoklonski IgG u likvoru i serumu) načinjena je dodatno u serumu kvantifikacija IgG, IgA, IgM (imunoturbidimetrija, Architect-c8000, Abbott) i imunofiksacija (Sebia). Bolesnicima s pozitivnim OlgG tip 2 i tip 3, određen je dodatno i indeks specifičnih antitijela (ASI) na neurotropne viruse (ospice, rubeola, varicela zoster i herpes simpleks).

Rezultati: Od 240 obrađenih bolesnika na OlgG (Ž/M=166/74; dob 40.2±15.3), tip 5 je nađen u 3 bole-

ls and maternal body mass index were associated to average weight changes and early RBP and insulin levels to average length changes, respectively. There was no difference between GDM-I and GDM-D infants.

Conclusion: This exploratory study suggests that early RBP levels may be a predictor of growth changes.

e-mail: gianlodovico.melzi@unimi.it

J17 (Oral presentation)

Monoclonal gammopathy as an accidental finding on CSF isoelectric focusing for oligoclonal IgG used as part of the diagnostic workup for multiple sclerosis

Ines Vukasović¹, Andrea Tešija Kuna¹, Vanja Bašić Kes²,
Dubravka Čaržavec³, Nada Vrkić¹,

¹University Department of Chemistry, University Hospital Centre Sestre milosrdnice, Zagreb, Croatia

²University Department of Neurology, University Hospital Centre Sestre milosrdnice, Zagreb, Croatia

³University Department of Internal diseases, University Hospital Centre Sestre milosrdnice, Zagreb, Croatia

Introduction: We aimed to present three cases of monoclonal gammopathy (MG) unexpectedly found on CSF isoelectric focusing for oligoclonal IgG (OlgG) carried out as a part of multiple sclerosis (MS) diagnostic workup.

Subjects and Methods: In the period from March 1st 2014 to March 1st 2015, isoelectric focusing (IEF) on agarose gel followed by immunofixation for IgG of paired liquor and serum samples from 240 patients presented with symptoms corresponding to MS were performed using Sebia semiautomated electrophoresis system. Serum samples of patients for whom type 5 pattern (monoclonal IgG bands in CSF and serum) was found on IEF were further subjected to immunofixation (Sebia) and IgG, IgA, IgM quantification (immunoturbidimetry, Architect-c8000, Abbott). In patients with positive OlgG, antibody specificity index (ASI) for neurotropic viruses (Morbilli, Rubella, Varicella Zoster, Herpes simplex) were assessed.

snika (Ž/M=2/1). U 2 bolesnika je uz tip 5 dokazan i tip 3 OlgG što upućuje i na intratekalnu sintezu IgG uz monoklonski IgG. Imunofiksacijom seruma potvrđen je monoklonski IgG-kappa tipa u dva, a monoklonski IgG-lambda u jednog bolesnika. Bolesnici ma s istovremenom pojavnošću tipova 5 i 3 nađene su i demijelinizacijske promjene primjenom slikovne tehnike magnetske rezonancije (MRI) te pozitivan ASI na neurotropne viruse što podupire istovremeno postojanje MS uz multipli mijelom (MM) u jednog bolesnika, te MS i monoklonske gamopatije neodređene značajnosti (MGUS) u drugog. Trećem ispitaniku potvrđen je MGUS, a isključena MS.

Zaključak: Vrlo rijetko je demijelinizacijska bolest udružena s MG (najčešće MGUS-om) te su suprotstavljeni stavovi o potrebi izvještavanja nalaza tipa 5. Neki stručnjaci smatraju da se nepotrebno uznemirava pacijent i povećavaju troškovi dodatnim ispitivanjima upitnog kliničkog značaja. Naši rezultati pak, naglašavaju važnost provedbe dodatnih ispitivanja za razlikovanje MM i MGUS-a kako bi se odmah započelo s terapijom ili donijela odluka o potrebi praćenja pacijenta.

e-adresa: ines.vukasovic@gmail.com

Results: Out of 240 patients (F/M=166/74; age 40.2±15.3), type 5 pattern on paired serum/CSF IEF was found in three patients (F/M=2/1), in two of them in addition with type 3 pattern (indicating intrathecal IgG synthesis). Monoclonal IgG-kappa was found in two and monoclonal IgG-lambda in one patient. In patients with 3 and 5 OlgG patterns, demyelination on magnetic resonance imaging (MRI) together with antibody specificity index (ASI) for neurotropic viruses supported the MS diagnosis in coexistence with multiple myeloma (MM) in one and monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS) in other patient. In third patient MGUS was diagnosed and MS excluded.

Conclusion: Coexistence of demyelination disease and MG (mainly MGUS) has been reported as extremely rare with controversies about reporting of type 5 OlgG pattern with intention to avoid anxiety and unnecessary examination. Our data stressed out the importance of performing the additional examinations for distinguishing MM and MGUS in order to apply therapy immediately or just follow up the patient.

e-mail: ines.vukasovic@gmail.com

J18

Nevjerojatna kritična vrijednost – prikaz slučaja

Gordana Tkalec, Lidija Ivković, Bojana Kranjčec

Medicinsko biokemijski laboratorij, Opća bolnica Zabok i bolnica hrvatskih veterana, Zabok, Hrvatska

Uvod: Prema preporukama HKMB potrebno je pravodobno i neizostavno izvještavati liječnika o kritičnim vrijednostima laboratorijskih pretraga opasnim po život bolesnika. Za koncentraciju glukoze u serumu kritična vrijednost je manja od 2,5 i viša od 27,8 mmol/L. Kod dobivene vrijednosti koncentracije glukoze u serumu od 101,4 mmol/L prvo se pomislilo na predanalitičku grešku kontaminaciju uzorka infuzijskom otopinom.

Ispitanici i metode: Pacijent star 56 god. primljen je u Objedinjeni hitni prijem OB Zabok i bolnice hrvatskih veterana u teškom stanju. Pri primitku od labo-

J18

Unbelievably critical value – case report

Gordana Tkalec, Lidija Ivković, Bojana Kranjčec

Medical Biochemistry Laboratory, General Hospital Zabok and Hospital of Croatian Veterans, Zabok, Croatia

Introduction: According to HKMB guidelines it is necessary to send an immediate report to the doctor who is responsible for the patient if there is a critical value in laboratories analysis that is life threatening for the patients. For glucose critical levels in serum are below 2.5 and higher than 27.8 mmol/L. When we acquired a result of 101.4 mmol/L, our first thought was to assign it to preanalytical error by contamination of the sample with i.v. fluid.

Subjects and Methods: Patient (56y) was admitted to emergency room in General Hospital Zabok in severe condition. Laboratory analyses as ordered

ratorijskih nalaza tražena je KKS, analiza pH i plinova u krvi, PV, glukoza, ureja, kreatinin, ukupni bilirubin, Na, K, AST, ALT, GGT, AP, CK, CK-MB, Troponin I, D-dimeri, CRP, etilni alkohol i pretraga mokraće. Pacijent je zaprimljen u Odjel intenzivnog liječenja gdje je kroz nekoliko dana praćen, uzastopno je određivana glukoza, ureja, kreatinin, pH, plinovi u krvi, Na i K da bi za nekoliko dana pacijent bio premješten u drugu bolnicu radi potrebe za dijalizom.

Rezultati: Laboratorijski nalazi pacijenta pri primitku upućivali su na hiperosmolarnu komu, hemokonzentraciju te oslabljenu funkciju bubrega. Početna koncentracija glukoze od 101,4 mmol/L odmah je javljena liječniku kao vrijednost viša od 40 mmol/L, a nakon dilucije javljena je točna kritična vrijednost. Uzastopnim određivanjem kroz nekoliko sati i dana dobivene su vrijednosti glukoze od 93,0 mmol/L, 74,9 mmol/L, 59,3 mmol/L, 53,3 mmol/L, 41,4 mmol/L, 30,9 mmol/L, 18,4 mmol/L, 12,5 mmol/L te 4,7 mmol/L.

Zaključak: Iz dobivenih vrijednosti koncentracije glukoze kroz nekoliko sati i dana vidljivo je da je početna kritična vrijednost glukoze od 101,4 mmol/L bila točna iako je početno postavljena sumnja da se radi o predanalitičkoj pogrešci. O svakoj kritičnoj vrijednosti potrebno je što prije obavijestiti liječnika. Liječnik koji je obaviješten o kritičnoj vrijednosti glukoze prihvatio je tu informaciju i u nalazu pri primitku napisao „iz lab. je javljeno da je GUK preko 40“.

e-adresa: laboratorij.voditelj@bolnica-zabok.hr

J19

Značajnost mjerenja koncentracije aminokiselina metodom tandemске spektrometrije masa u dijagnostici i praćenju liječenja argininosukcinične acidurije

Ana Škaričić¹, Marija Zekušić¹, Ksenija Fumić¹, Karmen Bilić¹, Dunja Rogić¹, Johannes Häberle², Danijela Petković-Ramadža³, Vladimir Sarnavka³, Ivo Barić^{3,4}

¹Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku Kliničkoga bolničkog centra Zagreb i Medicinskog

fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb, Hrvatska

²Division of Metabolism, University Children's Hospital Zürich, Zürich, Switzerland

³Klinika za pedijatriju, Klinički bolnički centar Zagreb, Zagreb, Hrvatska

⁴Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Hrvatska

were: complete blood count, pH analyses, gas analyses, prothrombin time, glucose, creatinine, BUN, total bilirubin, potassium, sodium, AST, ALT, GGT, AP, CK, CK-MB, Troponin I, D-dimer, C-reactive protein, ethyl alcohol and urine analysis. Patient was transferred to the intensive care unit where he was closely monitored by analysing blood glucose levels, BUN, creatinine, pH and gas analysis. After a few days the patient was transferred to another hospital because the need for dialysis.

Results: Laboratory results were pointing to hyperosmolar coma, hemoconcentration and impairment of the kidney function. First laboratory results were reported to the doctor in charge as a value of glucose greater than 40 mmol/L and after dilution and repeated analysis an accurate value was reported. Consecutive analysis in the next hours and days had the results of 93.0 mmol/L, 74.9 mmol/L, 59.3 mmol/L, 53.3 mmol/L, 41.4 mmol/L, 30.9 mmol/L, 18.4 mmol/L, 12.5 mmol/L and 4.7 mmol/L.

Conclusion: From the values acquired in that period of time it is clear that the first result of 101.4 mmol/L was accurate although we had doubts about the already mentioned preanalytical error. The doctor we were communicating with wrote in the patients charts "lab reported glucose level above 40 mmol/L".

e-mail: laboratorij.voditelj@bolnica-zabok.hr

J19

Significance of measuring amino acid concentrations on tandem mass spectrometer in diagnosing and follow-up treatment of argininosuccinic aciduria

Ana Škaričić¹, Marija Zekušić¹, Ksenija Fumić¹, Karmen Bilić¹, Dunja Rogić¹, Johannes Häberle², Danijela Petković-Ramadža³, Vladimir Sarnavka³, Ivo Barić^{3,4}

¹Department of Laboratory Diagnostics, University Hospital Centre Zagreb, Zagreb, Croatia

²Division of Metabolism, University Children's Hospital Zürich, Zürich, Switzerland

³Department of Pediatrics, University Hospital Centre Zagreb, Zagreb, Croatia

⁴University of Zagreb School of Medicine, Zagreb, Croatia

Uvod: Argininosukcinična acidurija (ASA) je autosomno recesivna aminoacidopatija prouzročena manjkom enzima iz ciklusa ureje argininosukcinat-liaze (ASL) koji cijepa argininosukciničnu kiselinu na arginin i fumarat. Bolest se očituje u dojenačkoj dobi s izrazitom hiperamonijemijom i kliničkim manifestacijama koje uključuju letargiju, somnolentnost, gubitak apetita, povraćanje, tahipneju, respiracijsku alkalozu i progresivnu encefalopatiju. Kako je hiperamonijemija stanje koje zahtijeva hitan terapijski pristup, za pravovremenu dijagnozu nužno je prepoznati manjkavi enzim iz ciklusa ureje mjerenjem koncentracija aminokiselina u plazmi i urinu.

Ispitanici i metode: Muško novorođenče s hiperamonijemijom nepoznate etiologije. Aminokiseline su kvantificirane metodom tandemске spektrometrije masa udružene s tekućinskom kromatografijom visoke djelotvornosti (API 3200, tvrtka AB Sciex; UPLC Nexera, tvrtka Shimadzu) uz primjenu reagensa aTRAQ™ tvrtke AB Sciex. Navedenom metodom moguće je istovremeno kvantificirati 45 aminokiselina u plazmi uz interne standarde poznatih koncentracija za svaku aminokiselinu. Analizirane su i sve kodirajuće regije gena za ASL u suradnom inozemnom centru University Children's Hospital u Zürichu, Švicarska.

Rezultati: Uz prisutnu izrazitu hiperamonijemiju (1047 $\mu\text{mol/L}$, N 24-48 $\mu\text{mol/L}$), u nalazu aminokiselina u plazmi nađene su izrazito povišene koncentracije citrulina (415 $\mu\text{mol/L}$, N 9-35 $\mu\text{mol/L}$) i argininosukcinične kiseline (1308 $\mu\text{mol/L}$) koja se ne nalazi u zdravih ljudi. Koncentracija arginina bila je granično niska (18 $\mu\text{mol/L}$, N 6-130 $\mu\text{mol/L}$). Na osnovu ovog nalaza postavljena je dijagnoza argininosukcinične acidurije. U skladu s postavljenom dijagnozom nađeno je da je pacijent homozigot za još neopisanu besmisleni (engl. non-sense) mutaciju c.1128C>A p.(Tyr376*) u genu za ASL.

Zaključak: Mjerenje koncentracije aminokiselina metodom tandemске spektrometrije masa nužno je kod svih stanja s hiperamonijemijom nepoznatog uzroka, a osobito u diferencijalnoj dijagnostici poremećaja ciklusa ureje. Također je u dijagnosticiranih bolesnika nužno uz amonijak mjeriti i aminokiseline u plazmi i urinu kao jedan od parametara pri praćenju uspješnosti liječenja.

e-adresa: askaric@yahoo.com

Introduction: Argininosuccinic aciduria (ASA) is an autosomal recessive aminoacidopathy caused by deficiency of the urea cycle enzyme argininosuccinate lyase (ASL) that cleaves the argininosuccinic acid to arginine and fumarate. The disease presents in infancy with extreme hyperammonemia and clinical symptoms including lethargy, somnolence, appetite loss, vomiting, tachypnea, respiratory alkalosis and progressive encephalopathy. Since hyperammonemia is a condition that requires urgent therapeutic approach, it is necessary for timely diagnosis to identify the deficient enzyme of the urea cycle by measuring the concentration of amino acids in plasma and urine.

Subjects and Methods: A male infant with hyperammonemia of unknown etiology. Amino acids were quantified by tandem mass spectrometry coupled with high performance liquid chromatography (API 3200, AB Sciex; UPLC Nexera, Shimadzu) using aTRAQ™ reagent (AB Sciex). Method allows simultaneous quantification of 45 amino acids in plasma using internal standards for each amino acid. All coding regions of the ASL gene were analyzed in collaborative international center University Children's Hospital in Zürich, Switzerland.

Results: Besides extreme hyperammonemia (1047 $\mu\text{mol/L}$, N 24-48 $\mu\text{mol/L}$), plasma amino acid analysis showed high levels of citrulline (415 $\mu\text{mol/L}$, N 9-35 $\mu\text{mol/L}$) and argininosuccinate (1308 $\mu\text{mol/L}$), which is not present in healthy individuals. Arginine concentration was borderline low (18 $\mu\text{mol/L}$, N 6-130 $\mu\text{mol/L}$). Based on these findings, the diagnosis of argininosuccinic aciduria was established. In accordance with the diagnosis, molecular genetic investigation identified non-sense mutation c.1128C>A p.(Tyr376*) in the ASL gene in a homozygous state that has not been described so far.

Conclusion: Measurement of the concentration of amino acids using tandem mass spectrometry is necessary in all conditions with hyperammonemia of unknown etiology, particularly in the differential diagnosis of urea cycle disorders. It is also of great importance to continuously measure ammonia and amino acid levels in plasma and urine as part of treatment monitoring in patients with confirmed diagnoses.

e-mail: askaric@yahoo.com

J20

Optimizacija metode za određivanje katalitičke aktivnosti ekto-ATPaze u ljudskom serumu

Anita Somborac Bačura¹, Karmela Barišić¹, Monika Janković¹, Diana Salem¹, Ognjen Čulić², Tihana Žanić Grubišić¹

¹Zavod za medicinsku biokemiju i hematologiju, Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb, Hrvatska

²Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb, Hrvatska

Uvod: Ekto-ATPaze su transmembranski enzimi koji sudjeluju u hidrolizi izvanstaničnog ATP-a i ADP-a. Izvanstanični ATP te drugi nukleotidi i nukleozidi su važne signalne molekule koje reguliraju različite učinke u gotovo svim tkivima: kontraktilnost glatkih mišića, vaskularni tonus, imunosti odgovor, nocicepciju, neurotransmisiju, embrionalni razvitak, hemostazu. Osim membranski vezanih oblika enzima, u tjelesnim tekućinama poput seruma mogu se pronaći i topljivi, enzimski aktivni oblici ekto-ATPaze. Poremećena regulacija ekto-ATPaze sudjeluje u patogenezi raznih oboljenja kao što su degenerativni neurološki odgovor, akutna upala, rast tumora i metastaziranje. Stoga je selektivna inhibicija te regulacija ekto-ATPaze jedno novo znanstveno područje koje se trenutno istražuje s velikim zanimanjem. Cilj ovog rada bio je optimirati uvjete određivanja katalitičke aktivnosti ekto-ATPaze u ljudskom serumu.

Materijali i metode: Određivanje katalitičke aktivnosti ekto-ATPaze u ljudskom serumu provedeno je uz upotrebu ATP-a kao supstrata. U indikatorskoj reakciji mjerena je količina oslobođenog anorganskog fosfata spektrofotometrijskom metodom, s amonijevim heptamolibdatom i askorbinskom kiselinom kao reducensom, na 620 nm. Za optimiranje uvjeta korišten je "pool" serum te je određena katalitička aktivnost ekto-ATPaze u 20 uzoraka zdravih osoba. Statistička analiza provedena je upotrebom SigmaStat programa.

Rezultati: Optimiranjem uvjeta postignuta je zadovoljavajuća aktivnost enzima na 37°C uz 50 mmol/L HEPES-Tris pufer, pH 7,2 koji je sadržavao 5 mmol/L CaCl₂ i 3 mmol/L ATP, dok je zaustavljanje reakcije izvršeno uz 3 mol/L trikloroacetnu kiselinu. Nepreciznost unutar serije određena je korištenjem "pool"

J20

Optimization of the method for determination of the catalytic activity of ekto-ATPase in human serum

Anita Somborac Bačura¹, Karmela Barišić¹, Monika Janković¹, Diana Salem¹, Ognjen Čulić², Tihana Žanić Grubišić¹

¹Department of Medical Biochemistry and Hematology, Faculty of Pharmacy and Biochemistry, University of Zagreb, Zagreb, Croatia

²Faculty of Pharmacy and Biochemistry, University of Zagreb, Zagreb, Croatia

Introduction: Ecto-ATPases are transmembrane enzymes involved in hydrolysis of extracellular ATP and ADP. Extracellular ATP and other nucleotides and nucleosides are important signaling molecules that regulate a variety of effects in almost all tissues: smooth muscles contractility, vascular tone, immune response, nociception, neurotransmission, embryonic development, hemostasis. In addition to the membrane bound form of the enzyme, soluble active forms of ekto-ATPase may be found in body fluids such as serum. Dysregulation of ekto-ATPase participates in pathogenesis of various diseases (degenerative neurological response, acute inflammation, tumor growth and metastasis). Therefore, selective inhibition and regulation of ekto-ATPase is a new scientific field currently being explored with great interest. The aim of this study was to optimize conditions for determination of the catalytic activity of ekto-ATPase in human serum.

Materials and Methods: The catalytic activity of ekto-ATPase in human serum was measured using the ATP as a substrate. The amount of released inorganic phosphate was measured using the spectrophotometric method, with ammonium heptamolybdate and ascorbic acid as a reducing agent, at 620 nm. "Pool" serum was used for optimization of reaction conditions, and catalytic activity of ekto-ATPase was determined in 20 healthy individuals. Statistical analysis was performed using the SigmaStat program.

Results: The satisfactory enzyme activity at 37°C was obtained with 50 mmol/L HEPES-Tris buffer, pH 7.2, containing 5 mmol/L CaCl₂ and 3 mmol/L ATP, whereas the reaction was stopped with 3 mol/L trichloroacetic acid. Within-run imprecision was determined using the "pool" se-

seruma (N=10; $89,2 \pm 19,2$ nmol/mL/hr; KV=21,5%). Izmjerena katalitička aktivnost ekto-ATPaze u 20 uzoraka zdravih osoba iznosila je 63,7 (29,6-100,1) nmol/mL/hr.

Zaključak: U ovom radu optimirani su uvjeti određivanja katalitičke aktivnosti ekto-ATPaze u ljudskom serumu, što je osnova za daljnje istraživanje ekto-ATPaze u patogenezi raznih bolesti.

e-adresa: kbarisic@pharma.hr

J21

Određivanje makroprolaktina taloženjem s polietilen glikolom

Iva Lukić, Tihana Pavošević, Vesna Horvat, Sanja Mandić, Vatroslav Šerić

Odjel za kliničku laboratorijsku dijagnostiku, Klinički bolnički centar Osijek, Osijek, Hrvatska

Uvod: Prolaktin je u serumu prisutan u nekoliko molekularnih oblika te povremeno može tvoriti makromolekularne komplekse. Makroprolaktin je molekula koja nastaje povezivanjem monomera prolaktina i imunoglobulina G. Makroprolaktin, u određenoj mjeri, zadržava imunoreaktivnost kod svih imunokemijskih testova, ali ne posjeduje gotovo nikakvu biološku aktivnost *in vivo* te se njegova prisutnost smatra klinički beznačajnom. Cilj ovog istraživanja bilo je izvođenje postupka probira na makroprolaktin, taloženjem s polietilen glikolom (PEG), kako bi se osiguralo njegovo rutinsko otkrivanje.

Materijali i metode: Tijekom 5 mjeseci prikupili smo 29 uzoraka seruma s povišenim koncentracijama prolaktina (≥ 700 mIU/L). Za procjenu koncentracije i udjela prolaktina u supernatantu, taloženje PEG-om provedeno je u svim uzorcima seruma u skladu s postupkom kojega su opisali Olukoga i Kane (1999.). Početne koncentracije prolaktina i koncentracije nakon taloženja PEG-om mjerene su CMIA metodom (Architect i1000SR, Abbott). U skladu s literaturom, uzorci u ovoj studiji smatrani su pozitivnima na prisutnost makroprolaktina ako je udio prolaktina nakon taloženja PEG-om $< 40\%$. Uzorci s udjelom prolaktina $> 65\%$ smatrani su pretežno monomernim oblikom prolaktina, a uzorci s vrijednostima 40-65% klasificirani su kao nejasni.

rum (N=10; $89,2 \pm 19,2$ nmol/ml/hr; CV=21.5%). The catalytic activity of ecto-ATPase measured in 20 healthy subjects was 63.7 (29.6-100.1) nmol/ml/hr.

Conclusion: In this work conditions for determination of the catalytic activity of ecto-ATPase in human serum were optimized, which is the basis for further research of ecto-ATPase in pathogenesis of various diseases.

e-mail: kbarisic@pharma.hr

J21

The detection of macroprolactin by polyethylen glycol precipitation method

Iva Lukić, Tihana Pavošević, Vesna Horvat, Sanja Mandić, Vatroslav Šerić

Department of Clinical Laboratory Diagnostics, Clinical Hospital Centre Osijek, Osijek, Croatia

Introduction: Prolactin exists in human blood in several molecular forms and can form a macromolecular complex. Macroprolactin is a product of monomeric prolactin and immunoglobulin G association. While macroprolactin retains immunoreactivity to a certain extent in all prolactin immunoassays, it has almost no biological activity *in vivo* and therefore its presence is considered clinically irrelevant. The aim of this study was to perform screening procedures, using polyethylen glycol (PEG) precipitation method, to ensure routine detection of macroprolactin.

Materials and Methods: In a five month period we collected 29 serum samples with elevated prolactin concentration (≥ 700 mIU/L). To evaluate the prolactin concentrations and rate of recovery in the supernatant, the PEG precipitation test according to the method proposed by Olukoga and Kane (1999) was performed on all serum samples. Initial prolactin and post-PEG prolactin concentrations were measured using CMIA (Architect i1000SR, Abbott). In accordance with most literature data, samples in this study were considered positive for macroprolactinemia if recovery rate of prolactin was $< 40\%$. Recoveries of $> 65\%$ were classified as predominantly monomeric and values between 40% and 65% were classified as ambiguous.

Rezultati: Koristeći granicu od 40% za taloženje PEG-om, hiperprolaktinemija se može pripisati makroprolaktinu kod 11 (38%) od 29 pacijenata. Značajno povišene koncentracije prolaktina (≥ 700 mIU/L) bile su prisutne u 15 (52%) slučajeva. Nadalje, kod 3 uzorka je udio prolaktina nakon taloženja bio 40-65% te su rezultati smatrani nejasnima te bi se uzorci trebali podvrgnuti gel-filtracijskoj kromatografiji za potvrdu konačne dijagnoze. Serumske vrijednosti prolaktina kretale su se u rasponu 700-1900 mIU/L.

Zaključak: Budući da je makroprolaktin jedan od glavnih uzroka prividne hiperprolaktinemije, probir na makroprolaktin trebao bi biti uključen u rutinsko ispitivanje svih pacijenata s hiperprolaktinemijom kako bi se izbjegle pogrešne dijagnoze, prekomjerna laboratorijska ispitivanja i neadekvatna liječenja. Taloženje PEG-om omogućuje jednostavno prepoznavanje makroprolaktina u svakodnevnoj kliničkoj praksi.

e-adresa: lukiciva84@gmail.com

J22

Prikaz dva novootkrivena slučaja cistične fibroze; vrijednost istovremenog korištenja dijagnostičkih testova: kloridi u znoju/ fekalna elastaza

Irena Linarić¹, Jasna Obuljen¹, Oleg Jadrešin²

¹Odjel za medicinsku biokemiju i hematologiju, Zavod za laboratorijsku dijagnostiku, Klinika za dječje bolesti Zagreb, Zagreb, Hrvatska

²Odjel za gastroenterologiju i poremećaje prehrane, Klinika za pedijatriju, Klinika za dječje bolesti Zagreb, Zagreb, Hrvatska

Uvod: Cistična fibroza je najčešća nasljedna letalna bolest u bijeloj populaciji, koja zahvaća sekretorne stanice epitelnih organa, odnosno egzokrine žlijezde. Kliničku sliku obilježava kronična opstruktivna bolest pluća, a u većine bolesnika (85%) kronična insuficijencija pankreasa. Cilj je pokazati važnost određivanja klorida u znoju i koncentracije pankreatične elastaze u stolici, nezaobilaznih testova kod otkrivanja cistične fibroze.

Ispitanici i metode: Slučaj 1, dijete u dobi od 5 mjeseci, primljeno zbog nenapredovanja na tjelesnoj

Results: Using the 40% limit for PEG precipitation, hyperprolactinemia was found to be attributed to macroprolactin in 11 (38%) of 29 hyperprolactinemic patients. Significantly increased concentrations of prolactin (defined as ≥ 700 mIU/L) were found in 15 (52%) cases. Furthermore, 3 samples showed PEG recoveries between 40-65% and should be classified as indeterminate and be subject to gel-filtration chromatography for a definitive diagnosis. Serum prolactin levels ranged from 700-1900 mIU/L.

Conclusion: Being one of the major causes of apparent hyperprolactinemia, screening for macroprolactin should be included in the routine management of all hyperprolactinemic patients to prevent misdiagnosis, amplification of laboratory testing and inappropriate treatment. PEG precipitation enables easy identification of macroprolactin in routine clinical practice.

e-mail: lukiciva84@gmail.com

J22

Report of two recently discovered cases of cystic fibrosis; the value of the simultaneous use of diagnostic tests: chloride in sweat and fecal elastase

Irena Linarić¹, Jasna Obuljen¹, Oleg Jadrešin²

¹Department of Medical Biochemistry and Hematology, Department of Laboratory Diagnostics, Children's Hospital Zagreb, Zagreb, Croatia

²Department of Gastroenterology and Nutrition, Department of Pediatrics, Children's Hospital Zagreb, Zagreb, Croatia

Introduction: Cystic fibrosis is the most common lethal inherited disease in the Caucasians which affects the secretory epithelial cells of organs, or exocrine glands. Clinical presentation characterizes chronic obstructive pulmonary disease, and in the majority of patients (85%) chronic pancreatic insufficiency. The aim is to show the importance of the determination of chloride (Cl) in sweat and concentration of fecal elastase (FE), unavoidable tests for the detection of cystic fibrosis.

masi, na umjetnoj prehrani, imalo 5-7 kašastih stolica dnevno, bez znakova masti u stolici, od prijašnjih bolesti registriran respiratorni katar. Slučaj 2, dijete u dobi od dva sata prima se iz KB „Sveti Duh“, indicira se kirurški zahvat uslijed distenzije abdomena i sumnje na perforaciju crijeva; postoperativno, urednog općeg stanja uz slabije napredovanje na tjelesnoj masi – u povijesti bolesti vodi se kao mekonijski ileus sa peritonitisom, od mikrobioloških analiza uzet aspirat nazofarinksa. U oba slučaja u sklopu dijagnostičke obrade više puta su, u kratkom vremenskom razmaku, učinjene koncentracija klorida (Cl) u znoju metodom pilokarpinske iontoforeze, te koncentracija fekalne elastaze (FE) ELISA metodom sa monoklonskim antitijelima (ScheBo, Njemačka).

Rezultati: Slučaj 1: anemija, hypoalbuminemia, bez hiponatremije; Cl u znoju 1,2=111,7; 101,8 mmol/L; FE_{1,2,3}<15 µg/g; nalaz genotipizacije: mutacija ΔF508. Slučaj 2: blaga anemija, hypoalbuminemia, bez hiponatremije, iz aspirata nazofarinksa izoliran *Pseudomonas aeruginosa*; Cl u znoju 1,2=103,6; 93,7 mmol/L; FE_{1,2}<15 µg/g, nalaz genotipizacije u tijeku.

Zaključak: U oba slučaja postavljena je sumnja na cističnu fibrozu; klinička slika uz laboratorijske nalaze opravdala je hitne zahtjeve za analizama koje mogu potvrditi postavljenu sumnju: određivanje klorida u znoju i koncentracije fekalne elastaze. Navedene analize su brze, reproducibilne i relativno jeftine te su nezaobilazan korak u ranom dijagnosticiranju cistične fibroze, bez nužnog nalaza genotipizacije. Takav pristup pomaže brzom zbrinjavanju bolesnog djeteta, jer rana dijagnoza omogućava odgovarajuće multidisciplinarnе intervencije koje pozitivno utječu na opći tijek bolesti.

e-adresa: irenalinarc16@gmail.com

Subjects and Methods: Case 1, a child five months old, received due to failure to weight, on an artificial diet, had a 5-7 mushy bowel movements a day, with no signs of fat in the stool, by previous diseases registered respiratory catarrh. Case 2, child aged two hours, the surgery was indicated due to abdominal distension and bowel perforation in doubt; postoperatively in good clinical condition with less progression of weight - a history of meconium ileus with peritonitis, nasopharyngeal aspirate collected. In both cases, in a short period of time, the concentration of Cl in sweat by pilocarpine iontophoresis method and the concentration of FE, ELISA (Schebo, Germany), have been done repeatedly.

Results: Case 1: anemia, hypoalbuminemia, without hyponatremia; Cl in sweat 1,2=111.7, 101.8 mmol/L; FE_{1,2,3}<15 µg/g; genotyping: ΔF508 mutation. Case 2: mild anemia, hypoalbuminemia, without hyponatremia, *Pseudomonas aeruginosa* isolated from nasopharyngeal aspirate; Cl in sweat 1,2=103.6, 93.7 mmol/L; FE_{1,2}<15 µg/g, genotyping in progress.

Conclusion: In both cases cystic fibrosis was suspected; clinical and laboratory findings justified urgent requests for analyses: the determination of chloride in sweat and concentration of fecal elastase. These analyses are fast, reproducible and relatively inexpensive and are an important step in the early diagnosis of cystic fibrosis, without necessarily genotyping. Such an approach helps to quickly care for sick children, because early diagnosis allows proper multidisciplinary interventions that positively affect the general course of the disease.

e-mail: irenalinarc16@gmail.com

J23

Biro predavača: novi obrazovni resurs u ponudi Evropske federacije za kliničku hemiju i laboratorijsku medicinu (EFLM)

Andjelo Beletić¹, Elizabeta Topic², Sverre Sandberg³, Mauro Panteghini⁴

¹Centar za medicinsku biohemiju, Klinički centar Srbije, Beograd, Srbija; EFLM Working Group Congresses and Postgraduate Education-Young Scientist Member

²Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb, Hrvatska; EFLM Committee Education and Training-Chair

³Norwegian Quality Improvement of Primary Care Laboratories, Noklus Department of Global Public Health and Primary Care, University of Bergen, Bergen, Norway; EFLM President Elect

⁴Department of Biomedical and Clinical Sciences "Luigi Sacco", University of Milano, Milano, Italy; EFLM President

Uvod: Imajući u vidu vodeću profesionalnu i naučnu ulogu Evropske federacije za kliničku hemiju i laboratorijsku medicinu (EFLM), postojala je pretpostavka da bi se u okviru EFLM Komiteta (C) i Radnih grupa (WG) mogla odabrati grupa naučnika čiji bi zadatak bio da kao predavači učestvuju na edukativnim skupovima koje organizuju nacionalna društva, članice EFLM.

Ispitanici i metode: U cilju uspostavljanja Biroa predavača EFLM, te odabira kompetentnih naučnika i adekvatnih tema, predsednici i članovi C i WG su u 2013. godini bili pozvani da se izjasne da li su u mogućnosti da učestvuju u radu i predlože teme, zajedno sa informacijom o jeziku koji će biti korišćen u prezentaciji. Predsednici EFLM Committee for Education and Training and Committee for Science su procenjivali i birali predloge, koje je naposljetku odobrio Izvršni odbor (EB) EFLM.

Rezultati: Ukupno je izabrano 207 tema, grupisanih u 29 oblasti. Najveći broj tema (broj se nalazi u zagradi) je pripadao preanalitici (15) i srčanim markerima (15), dok su se neposredno iza njih nalazile akreditacija (14), laboratorijska medicina fokusirana na pacijenta i laboratorijski menadžment. Teme je predložilo 40 službenika EFLM, iz 19 nacionalnih društava članova EFLM. Prezentacije na engleskom su na raspolaganju za sva predavanja, pri čemu za neke postoji mogućnost da se održe i na drugom jezicima (npr. francuski, holandski, hrvatski, danski). EFLM EB je odobrio osnivanje Biroa predavača u junu 2014.

J23

Speakers Bureau: a new educational resource offered by European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (EFLM)

Andjelo Beletić¹, Elizabeta Topic², Sverre Sandberg³, Mauro Panteghini⁴

¹Center for Medical Biochemistry, Clinical Centre of Serbia, Belgrade, Serbia; EFLM Working Group Congresses and Postgraduate Education-Young Scientist Member

²Faculty of Pharmacy and Biochemistry, University of Zagreb, Zagreb, Croatia; EFLM Committee Education and Training-Chair

³Norwegian Quality Improvement of Primary Care Laboratories, Noklus Department of Global Public Health and Primary Care, University of Bergen, Bergen, Norway; EFLM President Elect

⁴Department of Biomedical and Clinical Sciences "Luigi Sacco", University of Milano, Milano, Italy; EFLM President

Introduction: Considering the professional and scientific leadership of European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (EFLM), it was assumed that a pool of scientists serving as speakers for educational events organized by national EFLM member societies might be selected from EFLM Committees (C) and Working Groups (WG).

Subjects and Methods: With goal to establish the EFLM Speakers Bureau and identify eligible lecturers and topics, in 2013 the Chairs and members of EFLM C and WG have been invited to give their availability and propose topics, accompanied with information regarding language(s) used for presentation. Proposals were evaluated and selected by chairs of EFLM Committee for Education and Training and Committee for Science and finally endorsed by EFLM Executive Board (EB).

Results: In total 207 topics, grouped into 29 areas, were selected. Areas with the highest number of topics (in parentheses) were Preanalytics (15) and Cardiac Markers (15), followed by Accreditation (14), Patient Focused Laboratory Medicine (14) and Laboratory Management (12). Topics were proposed by 40 EFLM officers from 19 EFLM member societies. All lectures were offered to be presented in English, while some of them in other languages too (i.e., French, Dutch, Croatian, Danish). EFLM EB endorsed the establishment of Speakers Bureau in June 2014.

Conclusion: Number of available speakers and areas covered by the proposed topics indicate that re-

Zaključak: Broj dostupnih predavača i oblasti obuhvaćene predloženim temama ukazuju da resursi ponuđeni u sklopu EFLM Biroa predavača (http://www.efcclm.org/index.php/EFLM_Speakers_Bureau.html) mogu predstavljati celishodan doprinos u podršci edukativnim skupovima organizovanim od strane EFLM članica.

e-adresa: andjelo.beletic78@gmail.com

sources offered through the EFLM Speakers Bureau (http://www.efcclm.org/index.php/EFLM_Speakers_Bureau.html) may represent a suitable contribution to support educational events organized by EFLM member.

e-mail: andjelo.beletic78@gmail.com

PREDAVAČI / LECTURERS

Ajzner Éva	S3-3	McHugh Mary	S8-1	Radišić Biljak Vanja	S4-2
Barišić Karmela	S5-1	Meštrović Arijana	KL	Reljić Ante	S1-2
Bilić-Zulle Lidija	S8-3	Miklós Tünde	S3-3	Rimac Vladimira	S7-3
Carobene Anna	PL3	Miler Marijana	S7-2	Rogić Dunja	S6-2, S7-3
Coen Herak Désirée	S2-3	Molina Rafael	S1-1	Rumora Lada	S5-3
Čelap Ivana	S9-3	Nikolac Nora	S3-2	Šimundić Ana-Maria	S3-1
Debeljak Željko	S6-3	Panteghini Mauro	PL1	Šumarac Zorica	S6-1
Guder Walter G.	S4-1	Pašalić Daria	S5-2	Thomas Annette	S9-1
Hillarp Andreas	S2-2	Petrovečki Mladen	S8-2	Tomašković Igor	S1-3
Honović Lorena	S4-3	Plebani Mario	PL2	Unić Adriana	S9-2
Lippi Giuseppe	S7-1	Poljaković Zdravka	S2-1	Vogrinc Željka	S7-3

AUTORI POSTERA / POSTER AUTHORS

A		Bokulić Adriana	B06	Darboe Saffiatou	I04
Agosti Massimo	J16	Bošnjak Nada	G10	Delić Knežević Alma	I05
Agostoni Carlo	J16	Bozovic Dragica	J02	Demir Meltem	I01
Alpeza Viman Ines	G09	Božičević Sandra	F02	Dobrijević Sanja	A02, A03
Alvir Ilija	A03	Božina Nada	E01, G22	Dobrošević Blaženka	A05, H04, J09
Antončić Dragana	I08, G02, G03, H05	Bukovec Megla Željka	B06	Dorotić Adrijana	F01, I03
Aralica Merica	B05	C		Dozio Elena	J15
B		Candy Geoff P.	J05	Doželenčić Monika	G18
Babić Ivana (Zagreb)	B03, E02, G05	Coen Herak Désirée	B02, H03, H05	Drago Lorenzo	J03
Babić Ivana (Pula)	E02	Colpi Giovanni Maria	J15	Drvar Vedrana	C01
Bačić Zvonka	G08	Corsi Romanelli		Dukić Lora	I07, I10
Bah Gibril	I04	Massimiliano Marco	J15	Dževrnja Viro Dijana	G10
Bakliža Ana	I10	Č		Đ	
Balija Melita	B03, E02, G05	Čargonja Jelena	I05	Đanić Davorin	J06
Barassi Alessandra	F04, J03, J13, J14, J15, J16	Čaržavec Dubravka	J17	Đanić Hadžibegović Ana	J06
Barić Ivo	J19	Čepić Katarina	G10	Đerek Lovorka	B04, C01
Barišić Karmela	J20	Čulić Ognjen	J20	Đogić Vesna	B03, E02, G05
Baršić Ivana	H05	Čulig Zdravka	F01	E	
Bašić Eliza	G02	Ć		Erba Daniela	J03
Bašić Kes Vanja	J17	Ćorić Jozo	A01	F	
Beletić Andjelo	J23	D		Ferenec Ružić Dragica	G01
Bilić Karmen	J19	Damele Clara		Fijačko Mirjana	A05, J09
Bilić-Zulle Lidija	G02, G03, G08, G19, G20, I08	Anna Linda	F04, J03, J13, J14, J15, J16	Filipec-Kanižaj Tajana	G12
Bilopavlović Nada	G15	Danolić Damir	A03	Filipi Petra	G18
Bingulac-Popović Jasna	B03, E02, G05			Fišić Elizabeta	G02

Flegar-Meštrić Zlata	G12	Klasić Anita	F01, G11	Milčić Ana	G14
Formenti Paolo	F04	Klisis Aleksandra	J02, J04	Miler Marijana	G17, G18, I10
Francescato Gaia	J16	Knežević Branka	G15	Mileta Dean	J10
Fressl Juroš Gordana	H02, I09	Kocijančić Marija	I05	Milevoj Kopčinović	
Fumić Ksenija	J19	Komparić Nadia	E02	Lara	J12
Furčić Ivana	E02	Kozić Dokmanović		Milić Marija	H04
Fuštar Preradović		Sanja	F01	Mlinarić Ana	H02, I09
Ljubica	J06	Kozmar Ana	C01	Mujagić Renat	G04
G		Kramar Martina	F01	N	
Gaće Mihaela	A02, A03	Kranjčec Bojana	B01, I06, J18	Nel Marietha J.	J05
Ganoci Lana	E01	Krhač Maja	F02	Nicoletta Basilio	J14
Getaldić Biserka	G01	Kučukalić Elma	A01	Nikolac Nora	G17, G18, I07, I10
Gligorovic-Barhanovic		Kuleš Krešimir	F03	Nwakanma Davis	I04
Najdana	J02	L		NJ	
Goi Giancarlo	F04, J03, J13, J14, J16	Lapić Ivana	A04, J07	Njire Bratičević Marina	G16, I02
H		Laškaj Renata	F01, I03	O	
Häberle Johannes	J19	Lawal Bolarinde		Obuljen Jasna	G13, G14, J22
Hasanefendić Berina	A01	Joseph	I04	Omazić Jelena	G06
Herceg Anita	G09	Lenac Dubravka	G02	Ozdem Sebahat	I01
Herceg Ivona	J10	Leone Angela	F04, J03, J13, J14, J15, J16	Ožanić Doris	I08
Honović Lorena	G04	Linarić Irena	G13, G14, J22	P	
Horvat Martina	J11	Lovrić Mila	E01, G22	Pamuković Jaram	
Horvat Vesna	B07, G06, J21	Lukić Iva	B07, J21	Dijana	J08
Hrabrić Vlah Snježana	G19, G20	Lukšić Ana Helena	I10	Panteghini Mauro	J23
Hrstić Irena	E02	LJ		Panjeta Mirsad	A01
I		Ljubimir Diana	G16, I02	Papini Nadia	J14
Iapichino Gaetano	F04	M		Paradinović Ksenija	H04
Ivković Lidija	J18	Maljković Branka	J06	Parapini Silvia	J14
J		Mamić Ivica	A03	Pauković Sekulić	
Jadrešin Oleg	J22	Mandić Sanja	B07, G06, J21	Branka	H01
Jadrić Radivoj	A01	Marazzi Monica Gioia	J15	Pavela Jasna	A05, J09
Jaiteh Boto	I04	Marčelja Jasna	G02	Pavić Marina	J12
Jamaković Diana	G02	Margetić Sandra	G01	Pavošević Tihana	B07, J21
Janković Monika	J20	Marijančević Domagoj	G07	Peran Nena	J08
Jelisavac Ćosić Sanda	B02	Marjanac Igor	J09	Perkov Sonja	G12, G21, J10
Josipović Marina	J06	Maslović Margareta	B03	Perović Antonija	G16, I02
Jovanovic Milovan	J02, J04	Massaccesi Luca	F04, J03, J13, J14, J16	Petek Iva	B06
Jukić Irena	B03, E02, G05	Matic Marija	J02	Petković-Ramadža	
Jukić Vedrana	F01	Matica Jasminka	B05	Danijela	J19
Juraković-Lončar Nina	B03, E02, G05	Matišić Danica	A04, J12	Petrov Jordan	J01
K		Mayer Ljiljana	A02, A03	Pezzilli Raffaele	J13
Kavaric Nebojsa	J02, J04	Melzi d'Eril Gian Vico	F04, J03, J13, J14, J15, J16	Polak-Erceg Danijela	G11
Kirac Iva	A02	Mijakić Marija	I03	Pozaić Petra	A02
				Prkačin Ingrid	J10

Puljiz Mario	A03	Stošić Darka	H05	U	
Pušeljčić Silvija	J09	Surjan Lada	G11, J08	Umbrello Michele	F04
				Unić Adriana	B04, G07
R		Š		V	
Radeljak Andrea	G12, G21, J10	Šagud Marina	E01	Valenčić Davor	G19
Radišić Biljak Vanja	B02, F02, H03	Šanjug Jadranka	B01	Vianello Elena	J15
Rako Ivana	H02, I09	Šarlija Dorotea	G05	Vidranski Valentina	B06, F01
Reškov Željana	J08	Šegulja Dragana	A04, J12	Vladilo Ivana	G02
Rimac Vladimira	F03, H03	Šenjug Valentina	G11	Vogrinc Željka	F03, J07, J11
Rodin Kurtović		Šerić Vatroslav	A05, B07, H04, G06, J09, J21	Vrdoljak Danko	
Antonija	G10, G15			Velimir	A02
Rogić Dunja	A04, F03, G09, G22, H02, H03, H05, I09, J19	Šimić Vojak Sanela	H03	Vrkić Nada	G01, J17
		Šimundić Ana-Maria	G17, G18, I07, I10	Vrtarić Alen	G17
Rolić Tara	H04	Škaričić Ana	J19	Vučić Lovrenčić	
Romanò Carlo Luca	J03	Špacir Prskalo		Marijana	F02
		Zvezdana	A02, A03	Vuga Ivana	G01
S		Šupak Smolčić Vesna	H05, G02, G03, G08, I08	Vuk Tomislav	G05
Salem Diana	J20			Vukasović Ines	J17
Salice Valentina	F04	Šupe-Domić Daniela	G15	Vukasović Marko	G21
Salopek Snježana	G02			Vuković Barbara	A05
Sandberg Sverre	J23	T		Z	
Semenski Snježana	H05, I06	Tadijanović Krnjaić		Zaninović Ljiljana	J07
Sikirica Mirjana	D01	Milena	J06	Zec Ivana	B06, G18
Sladić Davorka	J08	Tandara Leida	H01	Zekušić Marija	J19
Smoljković Gabrijela	I03	Taramelli Donatella	J14	Zorić Matea	G12
Sokolić Božica	I03	Tarnik Petek Iva	B06		
Solimene Umberto	J15	Tešija Kuna Andrea	C01, J17	Ž	
Somborac Bačura		Tkalec Gordana	J18	Žanić Grubišić Tihana	J20
Anita	J20	Todorić Zorana	D01	Žgrablić-Cetina	
Spanu Paolo	F04	Tomašković Pavao	I06	Jadranka	E02
Sarnavka Vladimir	J19	Topić Elizabeta	J23	Žic Anđela	G08
Stančin Nevenka	B04	Trbojević-Čepe Milica	J07, J11	Živković Maja	E01
Stanišić Lada	G15	Trlaja Anuška	H01	Žlabravec Suzi	D01
Starčić Jelena	G21, J10	Turner Dunja	D01	Županić Danijela	G04
Stefanelli Rossana	F04, J03, J13, J14, J15, J16				