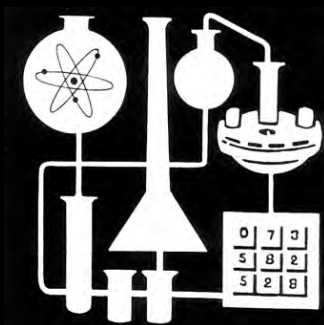


The Israel Society for Clinical Laboratory Sciences



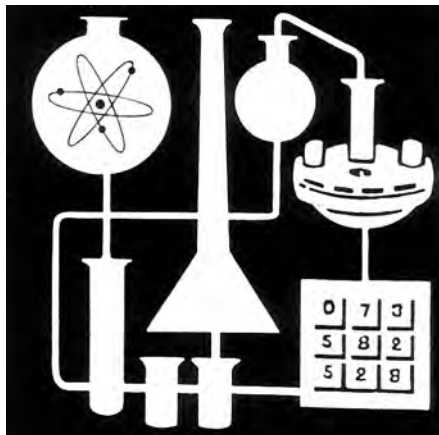
**הכינוס השנתי ה-47 של האיגוד הישראלי
למדעי המעבדה הרפואית - אילמ"ר**

**מרכז הכנסים, כפר המכביה
12-13 במרץ 2013**



2	דברי ברכה
3	הועדה המדעית, הועדה המארגנת וחברות תומכות
4-5	תוכנית הכינוס
6	הרצאות
27	פוסטרים

**ההרצאות, הפוסטרים והמצגות
זמינים לצפיה באתר אילמ"ר ilmar.org.il**



חברים יקרים,

בשם הועדה המדעית, הועדה המארגנת ובשם ועד האיגוד הישראלי למדעי המעבדה הרפואית (אילמ"ר), אני שמחה להזמין אתכם לכנס ה-47 במרכז הכנסים של מלון כפר המכביה, רמת גן. אני תקווה כי התוכנית שגובשה בעמל רב והרבה מחשבה, תמצא על ידכם אטרקטיבית. בכינוס נתכבד לארח בהרצאות מליאה את פרופ' חיים סידר (הפקולטה לרפואה, האוניברסיטה העברית), חתן פרס ישראל בתחום הביולוגיה לשנת 1999, חתן פרס וולף לשנת 2008 וזוכה פרס א.מ.ת לשנת 2009.

פרופ' חיים סידר, מאבות תחום האפיגנטיקה, שינה את הדרך שבה אנו מבינים כיצד גנים פועלים. הרצאת מליאה נוספת תינתן ע"י פרופ' שולמית לבנברג (הפקולטה להנדסה ביו-רפואית, הטכניון חיפה), זוכת פרס קריל לשנת 2006 ונכללת ברשימת 50 המדענים המובילים של Scientific American כ"מנהיגת מדע" בתחום הנדסת רקמות.

בישיבות השונות של הכינוס, בחרנו השנה להאיר מספר תחומים בהם שותפים עובדי מעבדה בתפקיד שונה ממה שהורגלנו בו. היחידות לפלסמה פרזיס, והמעבדות להשתלות מח עצם לא מתמקדות בצד האבחוני אלא משתתפות בחלק הטיפולי בחולים. בחרנו להציג בפני עובדי המעבדות בישראל את העבודה הייחודית בה עוסקות מעבדות אלו. בנוסף, נשמע מפי נציגי המרכז הלאומי לרפואה משפטית על השימוש בטכנולוגיות המעבדתיות בשירות הזיהוי הפלילי.

נפח התחלואה במחלות כליה ומחלות מעי דלקתיות גדל מאד בשנים האחרונות. עם העלייה בתחלואה, גדל מאד היקף הידע הקליני ונוספו תבחינים חדשים בתחומים אלו. בחרנו להציג את החידושים הקליניים המעבדתיים והמחקריים בתחומים אלו.

מחלת השחפת לא עברה מן העולם ובתקופה האחרונה קיימת עלייה בשכיחות המחלה בעולם וגם בישראל. רצינו לשתף את החברים באתגרים המנהליים, האבחוניים והטיפוליים של המחלה. לבסוף, נחשוף את המשתתפים לתחום חדש יחסית של המיקרוביולוגיה הקלינית - תופעת הביופילם. ניגע בהבנת התופעה ונסקר את דרכי ההתמודדות עם הביופילם בקליניקה ובתעשייה. אנו מודים לחברות המסחריות על השתתפותן הפעילה ותרומתן הנדיבה להצלחת הכינוס.

אנו מודים לחברות המסחריות על השתתפותן הפעילה ותרומתן הנדיבה להצלחת הכינוס, מאחלת לכולנו כינוס מעניין ומוצלח.

בברכה
ד"ר תמר סת"מ
יו"ר הועדה המדעית

הועדה המדעית, הועדה המארגנת וחברות תומכות

הועדה המדעית:

תמר סת"מ (יו"ר)

עדינה בר חיים

יובל גפן

אסתר רביזדה

נורית רוזנברג

חנה שפרכר

רותי תור

הועדה המארגנת:

נורית אלגור

שלמה פייטלוביץ

שרה עופר-מזכירות

הכינוס מתקיים בחסות החברות הבאות:



חסות זהב:



תכנית הכינוס

יום שלישי, 12 במרץ 2013

הרשמה	08:30-09:15
דברי פתיחה: יו"ר הועדה המדעית: ד"ר תמר סת"מ נשיאת אילמ"ר נורית אלגור	09:15-09:30
ישיבה ראשונה: המדע בשירות הזיהוי הפלילי יו"ר: ד"ר עדינה בר חיים	09:30-11:00
ביולוגיה משפטית - שימוש בדנ"א לצורך פענוח מקרי פשע ד"ר מיה פרוינד, המעבדה לביולוגיה משפטית, המרכז הלאומי לרפואה משפטית, אבו כביר	09:30-10:00
זיהוי אנושי באמצעות דנ"א - הקמת מרכז ארצי לזיהוי אלמונים ונעדרים ד"ר נורית בובליל, המעבדה לביולוגיה משפטית, המרכז הלאומי לרפואה משפטית, אבו כביר	10:00-10:30
בדיקות דימות (CT, MRI) כתחליף לנתיחה לאחר המוות ד"ר קונסטנטין זייצב, המרכז הלאומי לרפואה משפטית, אבו כביר	10:30-11:00
הפסקת קפה	11:00-11:30
הרצאת מליאה: יו"ר: ד"ר ורדה דויטש	11:30-12:30
רשתות כלי דם מהונדסות ותרומתן לקליטת רקמות מושתלות פרופ' שולמית לבנברג, הפקולטה להנדסה ביו רפואית, הטכניון, חיפה	
ארוחת צהריים וביקור בתצוגת הפוסטרים ובתערוכה	12:30-14:00
ישיבת פרסים ומלגות, הרצאת פרס אילמ"ר והצגת פוסטרים נבחרים	14:00-15:00
ישיבה שניה מקבילה (אולם המליאה): פלסמה פריזיס כטיפול במחלות אוטואימוניות יו"ר: ד"ר נורית רוזנברג	15:00-16:30
עקרונות הפרזיס ויישומיו השונים ברפואה ד"ר לילך בונשטיין, בנק הדם, הקריה הרפואית לבריאות האדם, רמב"ם, חיפה	15:00-15:30
שימוש בפלסמה פריזיס במחלת TTP ומחלות המטולוגיות אחרות ד"ר אשר וינדר, המכון ההמטולוגי, המרכז הרפואי וולפסון, חולון	15:30-16:00
תאי T גמא - דלתא במחלות אוטואימוניות בבני אדם, פוטנציאל פתוגני אך גם תראפיוטי פרופ' אילן בנק, מעבדה לאימונורגולציה, מרכז רפואי שיבא, תל השומר	16:00-16:30
ישיבה שלישית מקבילה (אולם ריימן מערב): ביופילם בקטריאלי: תהליכים חברתיים בחיידקים המציבים לנו אתגרים חדשים יו"ר: ד"ר יובל גפן	15:00-16:30
ביופילם, עמידות לאנטיביוטיקה ודרכי טיפול חדשניות לבנת נפרסטק, הפקולטה למדעי החיים, אוניברסיטת בר אילן, רמת גן	15:00-15:30
ביופילם בקליניקה - אתגרים ודרכי התמודדות ד"ר תמר גוטסמן, היחידה למחלות זיהומיות, המרכז הרפואי וולפסון, חולון	15:30-16:00
מניעת גידול ביופילם מיקרוביאלי - מנגנונים ושימושים אפשריים ד"ר משה הרצברג, המחלקה להתפלה וטיפול במים, אוניברסיטת בן גוריון, באר שבע	16:00-16:30

תכנית הכינוס

יום רביעי, 13 במרץ 2013

	הרשמה	08:30-09:30
	ישיבה רביעית מקבילה (אולם המליאה): מחלות מעי דלקתיות IBD	09:30-11:00
	יו"ר: ד"ר רות תור	
	מחלות מעי דלקתיות - היבט קליני	09:30-10:00
המרכז הרפואי	ד"ר ניצן מהרשק, המערך הגסטרואנטרולוגי, המכון למחלות דרכי העיכול והכבד, המרכז הרפואי סוראסקי, תל אביב	
	תפקיד המעבדה באבחון וטיפול בחולי קרוהן וקוליטיס - נקודת מבט קליני	10:00-10:30
	ד"ר דן טרנר, יחידת גסטרו ילדים, המרכז הרפואי שערי צדק, ירושלים	
	נוגדני TNF- בקרוהן וקוליטיס כמודל לפיתוח ויישום תבחינים חדשניים למדידת רמת תרופות ביולוגיות ונוגדנים כנגדן	10:30-11:00
	ד"ר שומרון בן חורין, השרות למחלות מעי דלקתי, המרכז הרפואי שיבא, תל השומר	
	ישיבה חמישית מקבילה (רימן מערב): השתלות מח עצם: לא השתלה ולא מח עצם	09:30-11:00
	יו"ר: ד"ר אסתר רביזדה	
	מבט כללי בנושא השתלות מח עצם	09:30-10:00
המרכז הרפואי סוראסקי, תל אביב	פרופ' אלה נפרסטק, היחידה להשתלות מח עצם ותאי דם, המרכז הרפואי סוראסקי, תל אביב	
	השתלות מח עצם - היבטים מעבדתיים	10:00-10:30
	ד"ר נירה בלום, המרכז להשתלות מח עצם, המרכז הרפואי שיבא, תל השומר	
	שימוש בדם טבורי בהשתלות	10:30-11:00
	פרופ' גדעון בכר, המאגר הציבורי לדם טבורי, ירושלים	
	הפסקת קפה	11:00-11:30
	הרצאת מליאה: יו"ר: פרופ' מיכאל מאיר	11:30-12:30
	אפיגנטיקה - הערות השוליים של החיים	
	פרופ' חיים סידר, הפקולטה לרפואה, האוניברסיטה העברית, ירושלים	
	ארוחת צהריים וביקור בתצוגת הפוסטרים ובתערוכה	12:30-14:00
	ישיבת אילמ"ר והענקת פרס "מעל ומעבר" לעובד מצטיין	14:00-15:00
	ישיבה שישית מקבילה (אולם המליאה): תפקודי כליה ומדדי איכות בנפרולוגיה	15:00-16:30
	יו"ר: ד"ר תמר סת"מ	
	שימוש בבדיקות המעבדה כמדדי איכות בנפרולוגיה	15:00-15:30
	פרופ' בתיה קריסטל, מחלקה נפרולוגית, בית החולים לגליל המערבי, נהריה	
	בדיקות ישנות וחדשות בשירות הנפרולוגי: Creatinine, eGFR, Cystatine C ועוד	15:30-16:00
	ד"ר מריאל קפלן, אגף מעבדות, הקריה הרפואית לבריאות האדם, רמב"ם, חיפה	
	משחלף האניונים פנדרין: שותף חדש בויסות נפח נוזלי הגוף	16:00-16:30
המרכז הרפואי	פרופ' ישראל זליקוביץ, היחידה לנפרולוגית ילדים "מאייר", ביה"ח לילדים שליד הקריה הרפואית לבריאות האדם, רמב"ם, חיפה	
	ישיבה שביעית מקבילה (אולם רימן מערב): שחפת, מחלה המתעוררת מחדש	15:00-16:30
	יו"ר: ד"ר חנה שפרכ	
	מחלת השחפת, היבטים רפואיים, מנהליים, אתיים ומה שביניהם	15:00-15:30
	ד"ר יניב שרר, סמנכ"ל המרכז הרפואי סוראסקי, תל-אביב	
	אבחון שחפת חבויה - 100 שנים מבדיקת המנטו לאינטרפרון	15:30-16:00
	ד"ר יובל גפן, מעבדה מיקרוביולוגית, הקריה הרפואית לבריאות האדם, רמב"ם, חיפה	
	פיתוח תרופות חדשות כנגד שחפת	16:00-16:30
	ד"ר אורן צמחוני, היחידה למחלות זיהומיות, המרכז הרפואי קפלן, רחובות	

ביולוגיה משפטית- שימוש בדנ"א לצורך פענוח מקרי פשע

דר' מיה פרוינד - המעבדה לביולוגיה משפטית, המרכז הלאומי לרפואה משפטית, אבו כבר

המדע הפורנסי עוסק בביסוס ראיות מדעיות והצגתן לבתי המשפט לצורך הרשעתו של חשוד בפשע. המעבדה הביולוגיה הפורנסית במרכז הלאומי לרפואה משפטית מתמקדת בקביעת פרופילים גנטיים שמקורם בחומרים ביולוגיים המאותרים על מוצגים מזירת העבירה, או על גופו של הקורבן, פרופילים המתבססים בעיקר על אתרי STR באזורים פולימורפיים על פני בדנ"א. הפרופיל הגנטי שנקבע למשל, לאקדח, שנאסף בזירת פשע מושווה לפרופילים גנטיים של חשודים פוטנציאליים באותו אירוע. במקרה של התאמה בין פרופיל מהמוצג לבין פרופיל מהחשוד, מוגשת חוות דעת לבית המשפט אשר מספקת לשופט נתון ביוסטטיסטי לגבי ייחודיותו של פרופיל זה באוכלוסיה ומאפשרת לשופטים להכריע לגבי הקשר בין החשוד לאירוע. איתור חשוד המעורב בפשע מסוים מתבצע גם באמצעות חיפוש במאגר פרופילים גנטיים של חשודים המצוי בידי משטרת ישראל, המונה מאות אלפי פרופילים.

יתוארו יתרונות וחסרונות בשימוש בפרופיל גנטי המתבסס על כרומוסום Y ובפרופיל גנטי המתבסס על דנ"א מיטוכונדריאלי וכן מקרים פליליים בהם טיפלה המעבדה וסייעה בפענוחם.

זיהוי אנושי באמצעות DNA - הקמת מרכז בארץ לזיהוי אלמונים ונעדרים

ד"ר נורית בובליל - המעבדה לביולוגיה משפטית, המרכז הלאומי לרפואה משפטית, אבו כביר

זיהוי מדעי של גופות אלמוניות מהווה חלק חשוב בתהליכי העבודה הפורנזיים (מדע משפטי) המתקיימים במרכז הלאומי לרפואה משפטית.

שיטות שונות מאפשרות זיהוי אדם באופן מדעי ביניהן טביעות אצבעות, השוואת מתאם שיניים, צילומי רנטגן, וכן קביעת פרופילים גנטיים. המעבדה הביולוגית במרכז הלאומי לרפואה משפטית אמונה בין השאר על סיוע בזיהוי גופות אלמונים באמצעים גנטיים. תהליך הזיהוי באמצעות DNA מתבסס על הדמיון הגנטי הקרוב הקיים בין בני משפחה מדרגה ראשונה, קרי, אבא, אמא, ילדים, אחים, אחיות.

שיתוף פעולה מוצלח בין המרכז הלאומי לרפואה משפטית ומשרד הבריאות, לבין משטרת ישראל והמשרד לבטחון פנים, אפשר לאחרונה הקמת מרכז חדש לזיהוי אלמונים ונעדרים. מטרת המרכז לאפשר איתור נעדרים על ידי הצלבת מידע גנטי של בני משפחות נעדרים עם גופות אלמונים.

המנגנון הקיים כיום משמש מהפכה אמיתית הן ברמה הטכנולוגית והן במערך השירות אשר המדינה מחוייבת לאזרחיה במטרה לסייע למשפחות הנעדרים לפתור את תעלומת העדרות יקיריהם, ולסייע להביאם לקבורה באופן מזוהה במידה ונדרש.

החלפת נתיחה חודרנית בבדיקות דימות (CT, MRI)

ד"ר קונסטנטין זייצב - המרכז הלאומי לרפואה משפטית, אבו כבר

בשלושים השנים האחרונות חלה התקדמות טכנולוגית מרשימה באיכות הנתונים המופקים מאמצעי הדימות וירידה בעלות הבדיקות. למרות שזה שנים בדיקות הדימות מהוות חלק בלתי נפרד משרשרת האבחון הקליני, רק בעשור האחרון החלה הקהילה המדעית הרפואית משפטית להבין את היתרונות הטמונים בהן להערכת סיבת המוות ומנגנוני חבלה.

הטמעת טומוגרפיה ממוחשבת ותהודה מגנטית במרכז הלאומי לרפואה משפטית, כאמצעי מסייע לנתיחה, יצרה מציאות חדשה בה ניתן למטב את תהליך חקירת המוות באמצעות הערכה ראשונית של ממצאים מחשידים והכוונת המנתח, כמו גם אפשרות של דימות כלל גופי של אזורים אשר בדרך כלל לא נצפים בנתיחה הקונבנציונאלית.

רשתות כלי דם מהונדסות ותרומתן לקליטת רקמות מושתלות

שולמית לבנברג, הפקולטה להנדסה ביורפואית, הטכניון, חיפה

הדרישה ההולכת ומתגברת לרקמות ואיברים להשתלות מאיצה את התקדמות המחקר בהתמיינות תאי גזע והנדסת רקמות. בהנדסת רקמות משלבים תאים ופיגומים ליצירת רקמות חלופיות, תלת מימדיות, הנועדות לשיפור, תיקון ורגנרציה של רקמות פגועות.

בהרצאה נדון בשיטות החדשות שפותחו במעבדה ליצירת רשתות כלי דם ברקמות מהונדסות ונדגים את חשיבות הרשתות בתהליך הקלטות הרקמה לאחר ההשתלה. בנוסף נתייחס להשפעת הפיגומים על תהליכי התארגנות הרשתות ובחידושים האחרונים הקשורים לשליטה בהתמיינות תאים והתארגנותם למבני רקמה.

הפרד ומשול – עקרונות האפרזיס ויישומיו השונים ברפואה

ד"ר לילך בונשטיין - מעבדת בנק הדם והמעבדה לאימונולוגיה של טסיות, הקריה הרפואית לבריאות האדם, רמב"ם, חיפה

אפרזיס הוא תהליך בו דם מורחק (בצורה רציפה) מהגוף ומופרד למרכיביו, בכדי לאפשר הרחקה/איסוף של מרכיב מסוים בעוד שאר המרכיבים מוחזרים למטופל. התהליך תלוי במכשור ייעודי וההתקדמות הרבה בתחום קשורה גם היא קשר ישיר להתפתחותם של המכשירים והטכנולוגיות השונות.

תהליך האפרזיס משמש לשתי מטרות עיקריות: איסוף תאים בריאים או סילוק מרכיבים עודפים מדם המטופל.

בין התאים הנאספים בתהליך האפרזיס נכללים תאי אב להשתלות מח עצם, טסיות מתורם יחיד, גרנולוציטים לטיפול בזיהומים מסכני חיים ופלסמה לייצור נסיובים לחיסון, למשל כנגד אבעבועות שחורות.

בתהליך האפרזיס הטיפולי ניתן לסלק/להחליף פלזמה במקרים בהם כתוצאה ממצב פתולוגי כלשהו מצטברים בפלסמה תוצרים המזיקים ישירות למטופל כגון: נוגדנים פתולוגיים במחלות ניירו אימונולוגיות כמו Myasthenia gravis, חלבונים גדולים כגון אלה המצטברים במחלה ההמטולוגית TTP או סילוק עודפי כולסטרול. לעיתים גורמת המחלקה לייצור עודפי תאי דם, בעיקר תאים לבנים וטסיות, המסולקים ע"י אפרזיס. גם הטיפול במשברים המולטיטיים של אנמיה חרמשית הוא ע"י טיפול אפרזיס בו מוחלפות כדוריות הדם האדומות של החולה.

שימוש בפלזמהפרזיס בארגמנת של קרישה וחסר טסיות

Plasmapheresis in Thrombotic Thrombocytopenic Purpura (TTP)

ד"ר אשר וינדר - מחלקה להמטולוגיה, מרכז רפואי וולפסון, חולון. awinder@post.tau.ac.il

ארגמנת של קרישה וחסר טסיות, TTP, היא מחלה נדירה וקשה, בעלת חמשה מאפיינים עיקריים: תרומבוציטופניה, אנמיה המוליטית, הפרעות במערכת העצבים, חום ופגיעה בתפקוד הכליות. המחלה משתייכת לקבוצת מחלות המכונה Thrombotic Microangiopathies, כלומר, מחלות בהם יש פקקת (קריש) בכלי דם קטנים. המחלה קרובה במיוחד לתסמונת Hemolytic Uremic Syndrome, כשהאחרונה מופיעה יותר בילדים ומתאפיינת במיוחד בפגיעה בתפקוד הכליות.

האבחנה של המחלה היא קלינית. חמשת המאפיינים הנ"ל מהווים את התנאי העיקרי לאבחון, אך המחלה יכולה להתבטא בתרומבוציטופניה ובאנמיה המוליטית בלבד. הפגיעה במערכת העצבים יכולה להתבטא בדרכים שונות: כאב ראש, התנהגות מוזרה, חסר עצבי ממוקד (מוטורי ו/או תחושתי), התכווצויות ואפילו תרדמת (Coma).

ישנם מספר סוגים קליניים של המחלה: מיקרים מולדים, או משפחתיים, ומיקרים נרכשים. רוב המקרים בגיל המבוגר הם נרכשים ומופעים ללא כל סיבה ברורה. לעומתם, ישנם מיקרים נרכשים אשר נוצרים בעקבות גירוי מוכר כמו: תרופות, מחלות סרטניות, זיהומים (כמו בנגיף הגורם לתסמונת הכשל החיסוני הנרכש – AIDS), הריון ועוד. התסמונת יכולה להופיע באופן חד פעמי, אך ישנם מיקרים בהם התסמונת חוזרת בפרקי זמן לא צפויים.

התסמונת הקלינית נוצרת בעקבות הווצרות קרישי דם, בכלי דם קטנים, במיוחד בכלי הדם של הכליות ושל המוח. הקרישים מביאים לחסימה של כלי הדם ובכך גורמים נזק לאברים השונים. הקרישים נוצרים, קרוב לוודאי, בתיווך von Willebrand Factor (VWF). גורם זה בנוי מיחידות קטנות המחוברות אחת לשנייה. ככל שיותר יחידות מחוברות נוצרת שרשרת גדולה יותר והפעילות מעודדת קרישה של VWF גדלה. באופן נורמלי שרשראות גדולות מאוד כמעט ולא נמצאות בזרם הדם, מכיוון שאלה מפורקות על-ידי אינזים ליחידות קטנות. בשנת 2001 אופיין האינזים וכוונה ADAMTS 13. בדמם של חולי TTP ניתן למצוא מולטימרים גדולים של VWF, ואומנם מתברר שלפחות בחלק מחולים נמצאה ירידה בפעילות האינזים, או בגלל חוסר מולד או בגלל קיום מעכבים לפעילות האינזים. ירידה בפעילות האינזים, כאמור, יכולה לגרום להצטברות VWF גדול במיוחד, אשר מעודד יצירת קרישי דם. אולם, לא בכל חולי TTP ניתן למצוא פעילות נמוכה של האינזים, כך שיתכן שקיימים מנגנונים נוספים המביאים להווצרות תסמיני המחלה.

אין בדיקת מעבדה אשר מאשרת באופן מוחלט אבחנה של המחלה. מקובל לערוך ספירת דם ובחינת משטח דם במיקרוסקופ כדי לקבוע חסר בטסיות וסימנים המעידים על אנמיה כתוצאה מהמוליזה. בדיקות כימיות של הדם מבוצעות כדי לאמוד את התפקוד של הכליות ולמדוד ערכים של אינזים LDH, שלרוב רמתו מאוד גבוהה בתסמונת.

הטיפול המרכזי בתסמונת הוא החלפת פלזמה תכופה בהליך המכונה פלזמהפרזיס (Plasmapheresis). מקובל להתחיל את ההחלפה תוך 24 שעות מהאבחנה. ולבצע אותה, לפעמים אפילו מידי יום עד העלמות סימני המחלה ואפילו לאחר מכן. ההחלפה מתבצעת על-ידי איסוף דם החולה באופן סטרילי לתוך מכשיר יעודי, אשר מפריד את הדם למרכיביו, ומחזיר לחולה את המרכיב התאי של הדם, כלומר, תאי דם ללא פלזמה. במקביל, מוזרם לחולה פלזמה שמקורה בתרומות דם מאנשים בריאים.

בנוסף לטיפול בפלזמהפרזיס, ניתן לתת טיפול בתרופות ממשפחת הסטרואידים. טיפול המוריד פעילות טסיות, כגון, אספירין, ניתן בדרך-כלל, אם עליית ערכי הטסיות כדי למנוע קרישי דם נוספים. ויטמין מסוג של חומצה פולית ניתן כדי לסייע ביצור כדוריות דם אדומות, אך בהתאם לצורך קליני ניתן לתת מנות של כדוריות דם אדומות.

באמצעות טיפול מתאים מעל 80% מחולים משיגים הפוגה מלאה של המחלה. אולם, כשליש מהחולים סובלים מארוע נוסף של TTP שיכול להתרחש אפילו 8 שנים מהארוע הראשון. לא ניתן לדעת מראש איזה מהחולים יסבול שוב מארוע ואיזה לא. יתכן שכריתה של הטחול עשויה לסייע בהורדת שכיחות הישנות המחלה, ולכן חולים שעברו מספר ארועים עשויים לעבור ניתוח זה.

למרות שהטיפול, ובמיוחד פלזמהפרזיס, הביא לירידה משמעותית בשיעור התמותה שהיתה מעבר ל-90%, עדיין TTP נשארה מחלה מסוכנת עם שיעור תמותה של 10-30%. אבחנה וטיפול מדויקים ומהירים חשובים בהצלחת הטיפול.

תאי T גמא – דלתא במחלות אוטואימוניות בבני אדם- פוטנציאל פתוגני אך גם תרפויטי

פרופ' אילן בנק - מעבדה לאימונולוגיה, המרכז הרפואי ע"ש שיבא, תל-השומר

Human $\gamma\delta$ T cells , which play innate and adaptive, protective as well as destructive, roles in the immune response associated with various diseases, were discovered in 1986, but the clinical significance of alterations of the levels of these cells in the peripheral blood in humans has not been comprehensively reviewed. By summarizing the patterns of easily measurable changes of this subset of T cells in peripheral blood in papers published in PubMed, correlations with specific disease categories, specific diagnoses within disease categories, and with prognostic outcomes became evident. Furthermore, these collective data suggest that enumeration of $\gamma\delta$ T cells and their subsets in the peripheral blood of patients could be a useful tool to evaluate diagnosis and prognosis in the clinical setting.

Biofilm: Antibiotics resistance and new treatment approaches

Livnat Naparstek^{1,2}, M.Sc

¹ The Mina and Everard Goodman Faculty of Life Sciences, Institute for Nanotechnology and Advanced Materials, Bar-Ilan University, Ramat Gan, Israel.

² Molecular Epidemiology and Antimicrobial Resistance Laboratory, Division of Epidemiology, Tel Aviv Medical Center, Tel Aviv, Israel.

Traditionally, bacteria have been regarded as individual organisms living in homogenous planktonic populations. However, it is well established today that many pathogenic bacteria grow preferentially in biofilms on a variety of surfaces inside the human body and on invasive devices as well as in their natural habitats. Biofilm is a fascinating life-form in which bacteria lives as a heterogeneous bacterial community. In this life-form bacteria encase themselves in a hydrated matrix of polysaccharide and protein, forming a slimy layer. In addition to the ability to escape the innate immune defense system, bacteria in a biofilm mode of growth are able to survive higher (sometimes 1000-fold) antibiotic concentration than the same bacteria in a planktonic form. The high resistance to antibiotics in biofilm was initially attributed to reduced drug penetration into the biofilm core due to the presence of a physical barrier that is formed by the extracellular polymeric substance. Research in the past few years have demonstrated that reduced growth rate of the bacteria and active starvation response; as well as changes in bacterial gene expression in the biofilm mode of growth that specifically induce resistant genes also contribute to biofilm resistance. This inherent resistance has made biofilm associated infections very difficult to overcome even when appropriate antibiotic treatments are provided. Therefore, biofilm related infections are very difficult to treat and often cause chronic infections. This has raised the need for alternative advanced biofilm treatment options other than or in combination with antibiotics standard treatment. In this talk we will discuss biofilm's unique antibiotic resistance mechanisms and will present some of the new approaches in biofilm associated infections treatment.

ביופילים בקליניקה- אתגרים ודרכי התמודדות

ד"ר תמר גוטסמן - היחידה למחלות זיהומיות המרכז הרפואי וולפסון, חולון

ביופילים הוא מבנה ארכיטקטוני תלת מימדי ורב- שכבתי המורכב מחומר פולימרי המיוצר ומעובד על ידי חיידקים ו/או פטריות שבתוכו מתקיימות מושבות בעלות תפקוד ומבנה הטרוגני. לביופילים חשיבות רבה בזיהומים המופיעים על גבי גופים זרים כדוגמת זיהומי משתלים אורטופדיים, זיהומי קוצב ומסתם לבביים ועוד. זיהום על ידי ביופילים מתאפיין במהלך כרוני ואיטי עם התלקחויות רק לסירוגין ומהווה אתגר אבחוני וטיפולי.

ההרצאה תסקור שיטות אבחון שמטרתן להתגבר על הקושי לגדל חיידקי ביופילים בתרבית כדוגמת סוניקציה, שימוש באבחון מולקולרי על ידי PCR ו- FISH, הסתכלות מיקרוסקופית ישירה באמצעות אימונופלוואורסצנציה וסרולוגיה. כמו כן ייסקר הטיפול האנטיביוטי והניתוחי לזיהומי ביופילים המקובל כיום וזה העתידי שיתמקד בעכוב תקשורת בין-תאית, הרס החומר האי-אורגני שמייצרים חיידקי הביופילים, אפקט ביו-אלקטרי ושחרור אנטיביוטיקה לפי דרישה במשתלים שונים.

Surface Properties of Graft-Copolymers Possesing Oppositely Charged Groups: Mitigation of Microbial Biofilm Formation, mechanisms and applications

תכנות פני שטח המושתלים עם קו-פולימרים בעלי קבוצות מנוגדות מטען: מניעת גידול ביופילם מיקרוביאלי, מנגנונים ושימושים אפשריים

משה הרצברג, אוניברסיטת בן גוריון בנגב – **Moshe Hezrberg**, Ben-Gurion University of the Negev

For efficient control of biofilm formation it is critical to study of the interactions between “anti-biofouling” modified surfaces and the extracellular polymeric substances (EPS) in charge of the biofilms’ adherence and coherence properties. In this study, polyvinylidene fluoride (PVDF) surfaces were used as substratum for anti-biofouling coating to study the biofouling resistance properties of the grafted layer. Graft polymerization was performed using the negatively-charged 3-sulphopropyl methacrylate (SPM) and positively charged [2-(Methacryloyloxy)ethyl]-trimethylammonium (MOETMA) monomers to yield a copolymer layer on the PVDF surface. Using quartz crystal microbalance with dissipation monitoring (QCM-D) technology, we evaluated the extent of graft polymerization by monitoring the increased mass on the PVDF surface during grafting process of QCM-D sensor pre-coated with PVDF. Changes in the QCM-D frequency and dissipation shifts were used to evaluate the grafted layer conformation and swelling properties at different aquatic conditions. For analysis of the reduced biofouling due to graft-polymerization, the adsorption of EPS extracted from a municipal wastewater membrane bioreactor (MBR) to the modified and non-modified surfaces was analyzed in the QCM-D flow-cell. A significant decrease in EPS adsorption to the modified PVDF sensor in the QCM-D flow-cell was observed. According to the frequency changes analyzed by the QCM-D, the modified sensor showed ~70% reduction in EPS adsorption compared to the non-modified one. Implementing this specific graft-polymerization, we also show that salt solution is required to swell this modified layer in order to make it function as strong anti-fouling surface. Interestingly, improvement in fouling resistance was dramatic in NaCl solution, and was not observed in double distilled water (DDW). In DDW, the strong intra-molecular association makes the polymer less hydrated and swelling is very low. Current study is being conducted for analyzing the reduced organic- and bio-fouling by the grafted layer under various aquatic conditions.

מחלות מעי דלקתיות- היבט קליני

ד"ר ניצן מהרשק, היחידה למחלות מעי דלקתיות, המכון למחלות דרכי העיכול והכבד, המרכז הרפואי ע"ש סוראסקי, תל אביב.

מחלות מעי דלקתיות הינן מחלות כרוניות הפוגעות במערכת העיכול ומתבטאות בכאב בטן, שלשול וחום. המחלות הינן בעלות אופי התקפי ומאופיינות בתקופות של התלקחויות ותקופות של שקט (רמיסיה). שיא ההופעה של המחלות הינו בעשור השלישי לחיים- אך הן עלולות להופיע בכל גיל. הן נפוצות במיוחד ביהודים ובישראל ישנם כ- 20000 חולים.

קוליטיס כיבית והמחלה ע"ש קרוהן הינן שתי המחלות העיקריות המכונות יחדיו בשם כולל- מחלות מעי דלקתיות. קוליטיס כיבית פוגעת במעי הגס ומאופיינת בכאב בטן ושלשול דמי ו/או רירי. המחלה פוגעת בעיקר ברירית המעי והינה רציפה מאזור הרקטום- מצב המכונה (פרוקטיטיס) ועד מעורבת של כל המעי הגס (מצב המכונה- פאנקוליטיס). המחלה ע"ש קרוהן עלולה לפגוע במערכת העיכול לכל אורכה, אך במרבית החולים מערבת את המעי הדק הסופי והקולון העולה בלבד. בניגוד לקוליטיס כיבית המחלה אינה רציפה (יש אזורים בריאים בין האזורים החולים) אך פוגעת בכל דופן המעי ולכן קלינית היא יכולה להתאפיין בתצורות שונות אשר יכולות להתבטא בכאב בטן, שלשול, בחילה, ירידה במשקל, חסימת מעי, אבצסים, פיסטולות ובפגיעה באזור פי הטבעת. לשתי המחלות עלול להיות ביטוי קליני גם מחוץ למעי הכולל מעורבות של העיניים, הכבד, פגיעה בפרקים ובעור וכן אנמיה.

הפתוגנזה של המחלות קשורה בפעילות בלתי מבוקרת של מערכת החיסון כנגד אנטיגנים חיידיים באדם החשוף גנטית. יחד עם זאת, לאלמנטים סביבתיים כגון- עישון, דיאטה, סטרס, מקום מגורים, וחשיפה לתרופות שונות יש תפקיד חשוב במחלות הללו. מכאן נגזרות בדיקות המעבדה שמשמשות אותנו למעקב ולאבחון המחלות וכן הטיפולים השונים אשר תפקידם להפחית את עוצמת הדלקת.

האבחנה של המחלות מתבססת על שילוב של הסתמנות קלינית, בדיקות מעבדה, ממצאים אנדוסקופיים, היסטולוגיים והדמיייתיים.

בדיקות דם וצואה המסייעות לאבחון מחלות מעי דלקתיות וטיפול בהן

ד"ר דן טרנר, מנהל המרכז לקרוהן וקוליטיס בילדים, המרכז הרפואי שערי צדק, ירושלים

בשנים האחרונות פותחו מספר בדיקות בלתי פולשניות המסייעות לרופא לאבחן את רמת הדלקת במעי הן באבחנה ראשונית והן בחולים מוכרים.

קלפרוטקטין - חלבון עיקרי בנויטרופילים ורמתו בצואה מצביעה על קיומה של דלקת במעי ועל רמתה. הבדיקה משמשת לביור ראשוני כאשר החשש לקיום מחלת מעי דלקתית לא גבוה מספיק בכדי להצדיק קולונוסקופיה חוזרנית. הבדיקה מסייעת למעקב לא פולשני אחר פעילות מחלה ידועה ובדיקות חוזרות עשויות לתת מידע על מידת התגובה לטיפולים השונים ולספק התראה מוקדמת על התקף מתקרב. קלפרוטקטין מאפשר להבדיל בין מחלות מעי דלקתיות ולבין תסמונת המעי הרגיז בדיוק של ~90% בזמן האבחנה. חשוב לזכור שכל דלקת במעי תגרוור עליה בערכי קלפרוטקטין כך שערך גבוה לא מאבחן מחלות מעי דלקתיות אלא רק מעלה את הסיכון לכך ומצדיק ביצוע קולונוסקופיה. הדיוק של הבדיקה להערכת רמת דלקת במטופל עם מחלה ידועה נמוך הרבה יותר.

ANCA ו-ASCA - בדיקות דם נפוצות לאבחון מחלות מעי דלקתיות. ה-ANCA (נוגדנים למרכיב תאי) עולה בעיקר במחלת קוליטיס כיבית ו-ASCA (נוגדנים למרכיב חיידקי) במחלת קרוהן. שכלל הידוע היום לנוגדנים אלה אין חשיבות בהתהוות הדלקת והם מהווים רק סמנים לקיום המחלה. שלוש סיבות לביצוע הבדיקות בזמן האבחנה: 1. בדומה לקלפרוטקטין, לאתר מטופלים עם תלונות של תסמונת המעי הרגיז שצריכים לעבור בירור נוסף (קולונוסקופיה). 2. להבדיל בין קוליטיס כיבית לקרוהן במקרה של דלקת לא טיפוסית במעי הגס, שיכולה להתאים הן לקוליטיס כיבית והן למחלת קרוהן (מצב של IBD- unclassified). 3. לנבא מצב מחלה. במחקרים שונים נמצא כי תוצאות חיוביות בדם עלולות להעיד על מהלך מחלה סוער יותר עם סיכון מוגבר לניתוחים ואשפוזים. עם זאת נדגיש כי מעבר להיבט המחקרי-אקדמי, לא מקובל לשלוח סרולוגיות למטרה זו בלבד היות שאין אנו יודעים לכמת את הסיכון ולתרגמו הלכה למעשה לטיפול. שיעור ה-ASCA חיובי (ו-ANCA שלילי) בנוכחות מחלת קרוהן הוא כ-65% בעוד שיעור בדיקה חיובית באוכלוסיה הכללית הוא כ-5%. ANCA חיובי במחלת קוליטיס כיבית (בנוכחות ASCA שלילי) הוא כ-60-70% בעוד שיעורו באוכלוסיה הכללית הוא כ-10-15%.

TPMP, 6MMP ו-6TG: אימורן ופורינטול הן תרופות המווסתות את פעילות המערכת החיסונית, ובכך מביאות להפחתת התגובה החיסונית העודפת במעי. אנזים ה-TPMT אחראי לפירוק התרופות בגוף לשני חומרים עיקריים: 6TG - החומר הפעיל שבעודף עלול לגרום לירידה בספירת הדם, ו-6MMP שאינו פעיל אך עלול לגרום לעליה בתפקודי כבד. לאחר תחילת נטילת התרופות יש צורך בבדיקות דם תכופות בכדי להבטיח את בטיחות הטיפול. חשוב להדגיש שברוב המקרים יעילות התרופה בשליטה על המחלה עולה על תופעות הלוואי האפשריות. בדיקת פעילות האנזים TPMT אפשרית רק לפני תחילת טיפול ויכולה לנבא חלק מן הסיכון לתופעות לוואי. לבדיקה הביוכימית יתרונות על הבדיקה הגנטית כי ביהודים, רק שלישי מאלו עם פעילות נמוכה יהיו חיוביים לסמנים הגנטיים. יתרה מכך, בדיקת הפעילות (בניגוד לגנטיקה) מאפשרת לזהות מטופלים עם פעילות אנזים גבוהה מדי וכך לנבא חלק מהמקרים בהם התרופה עלולה לא להיות יעילה ואף לגרום לעליה בתפקודי הכבד. בארה"ב חובה לבדוק פעילות TPMT לפני תחילת טיפול באימורן או פפורינטול. בארצות אירופה שכיחות ביצוע הבדיקה חלקית, בארץ הבדיקה לא בסל. כותב שורות אלה משתדל לבצע את הבדיקה ברוב המטופלים ולעיתים לא רחוקות התוצאות עוזרות בקביעת מינון, ובהחלטה על הטיפול האופטימלי. עם זאת, תשובה תקינה אינה מבטלת לחלוטין את הסיכון לתופעות לוואי וחובה להיות במעקב רפואי ומעבדתי צמוד. לאחר תחילת הטיפול ניתן לבדוק את הרמה בדם של שני תוצרי הפירוק של התרופות (6TG ו-6MMP), כדי לעזור במצבים בהם עולה חשד לתופעות לוואי (כגון עליה בתפקודי כבד על רקע לא ברור, ירידה בספירת הדם ותופעות קליניות שונות כגון נשירת שיער) או במצבים בהם ההשפעה הקלינית של התרופה חלקית ומעוניינים לבחון באופן ישיר את רמת החומר הפעיל בגוף. אין צורך בבדיקת רמות התרופה באופן שגרתי לכולם.

בדיקות עזר למתן תרופות ביולוגיות מסוג נוגדי TNF (רמיקייד והומירה): התכשירים הביולוגיים רמיקייד והומירה הם נוגדנים המיועדים לנטרל את מולקולת הדלקת TNF. הם נחשבים ליעילים מאוד בהשראת רגיעה ובשמירתה הן בקרוהן והן בקוליטיס כיבית ואף עשויים להשרות ריפוי הדלקת במעי ועידוד גדילה בילדים. עם זאת, ישנם מצבים בהם אין שיפור קליני מספק או שהיה שיפור ואבד עם הזמן, לרוב עקב הרס התרופה על ידי נוגדנים שהגוף מפתח. ניתן למדוד את רמת התרופה וקיום נוגדנים עצמיים כנגד התרופה בזמן אמת, לפני מתן התרופה. הרמות עשויות לעזור בקביעת מינון התרופה ובהחלטה האם יש מקום לעבור לטיפול חילופי. אין צורך לשלוח רמות תרופה לכל מטופל באופן שגרתי.

נוגדני-TNF בקרוהן וקוליטיס כמקרה מבחן: פיתוח וישום תבחינים חדשניים למדידת רמת תרופות ביולוגיות ונוגדנים כנגדן

ד"ר שומרון בן-חורין - השרות למחלות מעי דלקתי ומעבדת הגסטרו, מכון גסטרואנטרולוגי מרכז רפואי שיבא תל-השומר וביה"ס לרפואה סקלר, אוניברסיטת תל-אביב

קרוהן וקוליטיס הינן מחלות דלקתיות כרוניות של מערכת העיכול. הסיבה למחלות אלו טרם הובררה, אך היא נובעת ככל הנראה מהפעלה בלתי מרוסנת של מערכת החיסון כנגד מרכיבים חידקיים ו/או תזונתיים-סביבתיים לא ידועים במעי ו/או בחלל המעי, באנשים בעלי רקע גנטי מתאים. חולי קרוהן וקוליטיס הינם פעמים רבות אנשים צעירים הסובלים משלשול, כאבי בטן, דימום מדרכי העיכול, ירידת משקל, וביטויים נוספים של דלקת מתמשכת במעי.

הטיפולים המקובלים הינם תרופות מדכאות חיסון. לפני למעלה מעשור הושגה פריצת דרך עם הכנסתה לשימוש של התרופה אינפליקסימאב (רמיקד), שהינה התרופה הביולוגית הראשונה שאושרה לשימוש במחלות אלו. אינפליקסימאב הינו נוגדן מונוקלונלי מטיפול IgG1 המכוון ספיציפית כנגד מולקולת ה-TNF שלה תפקיד עיקרי בתיווך הדלקת במחלת קרוהן וקוליטיס. תרופה זו סללה את הדרך בהמשך להופעת נוגדי TNF נוספים כתרופות יעילות כגון אדלימומאב (יומירה), וסרטוליזומאב (סימזיה). יתרה מזו, מאז אנו חוזים ב"שיטפון" של פיתוח בשלבים מתקדמים של תרופות ביולוגיות נוספות המכוונות כנגד מסלולים תאיים וציטוקינים אחרים המתווכים את הדלקת במעי.

עם זאת, ככל שנרכש ניסיון בשימוש בנוגדני TNF, הוברר כי לתרופות אלו יש פוטנציאל לגרום להיווצרות נוגדנים כנגד התרופה בקרב מקבלי התרופה בשיעור שנע בין 10-60% מהמטופלים. בעבודות רבות נמצא כי היווצרות הנוגדנים עשויה להביא לסילוק מהיר יותר של התרופה מהדם ויתכן אף לאבטל באופן ישיר את קישור התרופה למטרתה. כפועל יוצא, היווצרות נוגדנים כנגד תרופות אנטי-TNF גורמת פעמים רבות לאובדן התגובה הקלינית לטיפול והתפרצות מחודשת של המחלה שמחייבת החלפת הטיפול או אף הפניה לניתוח.

תבחינים למדידת רמת התרופות נוגדני TNF ולמדידת רמת הנוגדנים כנגדן הופכים בשנים אחרונות לכלי עזר חשוב בניטור פרמקולוגי של המטופלים ואף לשם החלטות טיפוליות. עם זאת, פיתוח תבחינים אלו מהווה אתגר טכנולוגי וקליני לא פשוט, מחמת האינטראקציות הצולבות בין נוגדני הגילוי (detection antibody) של תבחיני ELISA, לבין התרופה שהינה נוגדן בעצמה ובין הנוגדנים כנגדה שנמצאים בסרום.

בהרצאה נסקור את התבחינים השונים שפותחו למטרה זו, כולל התבחין שפותח במעבדתנו (מעבדת גסטרו שיבא תל-השומר). נעמוד על הרציונל בכל אחת שבהן, והשימות הקלינית שלהן לניטור התגובות האימונוגניות לתרופות הביולוגיות.

אנו נמצאים בפתחו של עידן חדש בו אנו צפויים למגוון רחב של תרופות ביולוגיות לטיפול במחלות שונות, אוטו-אימוניות, סרטניות ואחרות. אנו נשתמש בנוגדני TNF כמקרה מבחן ונסקור מספר מקרי חולים הממחישים את הסוגיות הפרמקו-קינטיות והאימונולוגיות העולות משימוש בתבחינים חדשניים של מדידת נוגדנים לתרופה ביולוגית. סוגיות אלו צריכות להילקח בחשבון בעת פיתוח תבחינים כאלו ובעת פענוח התוצאות המתקבלות מהן.

אספקטים מעבדתיים בהשתלות מח עצם

ד"ר נירה בלום (PhD) - היחידה להשתלות מח עצם, המעבדה ההמטולוגית, המרכז הרפואי שיבא, תל השומר

השתלת תאי אב המטופויטיים או מח-עצם הינה טיפול המציע ריפוי או הארכת חיים לשורה ארוכה של חולים עם מחלות המטולוגיות ממאירות, סוגי סרטן אחרים ומחלות תורשתיות שאינן ברות ריפוי באופן אחר. קיימים סוגים שונים של השתלות תאי אב: 1. השתלות ממקור עצמי (autologous HSCT) המבוצעות לצורך שיקום מערכת הדם של חולי סרטן, הנדרשים לעבור טיפולי כימותרפיה או הקרנה אגרסיבית, טיפולים הפוגעים בתאי מח העצם והדם. 2. השתלות ממקור זר (allogeneic HSCT) בהם נאספים תאים מתורם בריא (בן משפחה או תורם זר מתאים) וניתנים לחולה לצורך ריפוי המחלה. קיימים מספר מקורות לתאי האב המשמשים להשתלה- מח עצם, דם פריפרי מועשר בתאי אב ודם טבורי.

ההרצאה תדון באספקטים המעבדתיים הקשורים להשתלות מח עצם – מאיתור התורם הפוטנציאלי דרך איסוף תאי האב, עיבוד תאי האב ושמירתם לטווח ארוך ועד ההשתלה.

שימוש בדם טבורי בהשתלות מח עצם

פרופ' גדעון בך - גנטיקה של האדם, מנהל רפואי/מדעי של הבנק הציבורי "בדמי" חי"י" לדם טבורי, אגודת "דור ישרים" הר חוצבים, רחוב המרפא 5, ירושלים.

תאי גזע המטופופואטיים המופקים מדם הנשאב מחבל הטבור (דם טבורי) מהווים כיום אלטרנטיבה חשובה מאוד להשתלות מח עצם לחולים הזקוקים להשתלות אלו להשרדותם. המושתלים הם בעיקר חולי ממאירויות המטולוגיות שונות (לויקמיה ועוד) או במגוון של מחלות תורשתיות. כ 50% מהחולים הילדים מושתלים כיום מדם טבורי ולמעלה מרבע מהחולים המבוגרים, כאשר הפרופורציה בהשוואה למקור מח העצם של החולים המבוגרים המושתלים כיום בדם טבורי הולכת וגדלה. האפשרות להשתלות למבוגרים עלתה לאחר השימוש שנעשה בשתי מנות דם טבורי יחד להשתלה בזמנית. כמו כן ריבוי תאי הגזע באמצעות תרבית תאים של חלק מתאי הגזע מאפשרת קבלת נפחי תאים גדולים להשתלה. עד היום הושתלו בעולם למעלה מ 30.000 חולים באמצעות דם טבורי.

לדם טבורי מספר יתרונות על פני מח עצם בכך שאין צורך במקור תאים זה בהתאמה מלאה של סוג הרקמות - HLA והתאמה ברמה של 75% בטוחה דיה לצורך ההשתלה. כמו כן לתאי הגזע הללו כושר פרוליפרציה מאוד גבוה. יתרון חשוב נוסף הינה התגובה החלשה יחסית מסוג GVHD (תגובת השתל כנגד המאחסן) בהשוואה למח עצם המהווה אחת הבעיות המרכזיות בסיכוני השתלות מח עצם. ולבסוף מנות הדם הטבורי זמינות כמעט מיידי להשתלה בעוד שבמקור של מח העצם לוקח לעיתים גם מספר חודשים עד לזמינותו להשתלה ולא פעם גורם הזמן הינו קריטי.

סה"כ שרידות החולים לאחר השתלת דם טבורי זהה להשתלות ממח עצם.

החיסרון העיקרי של הדם הטבורי הינו המיעוט יחסית של תאי הגזע בהשוואה למח העצם ולכן זמן הקליטה של תאי התורם ארוכה יותר, אולם כאמור לתאי הדם הטבורי כושר פרוליפרציה גבוה, וכמו כן השימוש, כאמור לעיל, בשתי מנות דם טבורי בזמנית להשתלה תורם באופן חלקי להתגבר על בעיה זו. עד היום נשמרים במאגרים ציבוריים ברחבי העולם למעלה מ 500.000 מנות דם טבורי אולם גם במקור זה ישנו עדיין חוסר זמינות לקבוצות אתניות שונות, כולל חלק מעדות ישראל. יחד עם זאת ניתן ומושג כבר היום מגוון אתני ועדתי של מנות הדם הטבורי גבוה הרבה יותר מאשר תרומות מח העצם. ולכן הקמת מאגרים גדולים בעלת חשיבות עליונה.

קיימים שני מקורות למאגרי הדם הטבורי; המאגרים הציבוריים (בנקים ציבוריים) שבהם מנות הדם הטבורי נתרמות על ידי היולדות, רשומות במאגרי מידע בינלאומיים וזמינות לכל נצרך מתאים. מאידך ישנם המאגרים הפרטיים (הבנקים הפרטיים) שבהם נשמרת מנת הדם הטבורי תמורת תשלום של אלפי שקלים לצורך שימוש עתידי לילוד/ה בעל מנת הדם, בעוד שלבני משפחתו אפשרות ההתאמה הינה בסיכוי של 25% או פחות על פי מידת הקירבה. יש להדגיש שהשימוש לצורך השתלה עצמית לבעל הדם (בנק פרטי) איננה רלוונטית ואינה ישימה לחולי ממאירויות דם או במחלות תורשתיות, כאשר חולים אלו

מהיום למעלה מ 90% מהמושתלים, כפי שפורט למעלה. לכן הסיכוי לשימוש בתאים אלו להשתלה הינו מזער בייותר. גופים רפואיים שונים כולל אירגוני רפואי ילדים או רופאי גניקולוגיה ועוד פרסמו הצהרות שאינם מעודדים קטגורית שימוש בבנק פרטי אלא אך ורק במאגרים הציבוריים. מספר ארצות אירופאיות כגון צרפת אוסרות קיום בנקים פרטיים.

בנוסף לתאי גזע ההמטופופואטיים ישנם תאי גזע נוספים בדם טבורי כגון תאים מזנכימליים. תאים אלו מנוצלים כיום לצורך לימוד רפואה משקמת – רפואה רגנרטיבית לתיקון נזקים במוח, בלבבל, לכלי דם ועוד. שימושים אלו עדיין ברמה מחקרית בחיות ניסוי או בניסויים קליניים, ועדיין אינם מיושמות רפואית לציבור.

Footnotes of Life

Chaim Cedar - Hebrew University

Every human being begins as a single cell containing all of the genes inherited from his parents, that are then precisely copied into every new cell as the body develops. These genes carry information that can be read and, in this way, translated into proteins, the basic building blocks that determine the properties of each cell in the body. Red blood cells, for example, read the gene for hemoglobin and thereby manufacture a specific protein that is used by these cells to carry oxygen through the blood. In a similar manner, the eye color gene contains information for making a colored protein (blue or brown) that is produced in cells of the iris. According to this scheme, every cell contains a full instruction manual with all of the information needed to make any component of the human body. Strikingly, however, different cell types only read and translate a portion of the information, thereby making those specific protein components that define that particular cells.

In this lecture, we will attempt to understand how cells control what information is read or ignored. One of the major mechanisms for this regulation is DNA methylation, whereby a chemical cap (methyl) is placed on genes in order to keep them silenced. By means of this simple marking system, all of the genetic information is annotated in order to instruct every cell which genes should be kept silent and which genes should be read and then used to manufacture specific components. We will try to understand how this mechanism works and how it, itself, is regulated during development. In addition, we will explore how DNA methylation plays a role in cancer and other diseases.

שימוש בבדיקות המעבדה כמדדי איכות בנפרולוגיה

בתיה קריסטל, נפרולוגיה, ביה"ח לגליל המערבי, נהריה, הפקולטה לרפואה של אוניברסיטת בר-אילן בגליל

"כאשר ניתן למדוד את הדבר שעליו מדובר ולהביע זאת במספרים, ניתן בהחלט לדעת על מה מדובר... אחרת, הידע שלך הוא זעום ובלתי-מספק... יתכן וזו רק התחלת הידע, אך השגת התקדמות כלשהי לכיוון המדע" ציטוט מדברי לורד קלווין 1824-1907

מדד איכות ברפואה מבטא באופן כמותי היבט מסוים של בריאות כגון: תחלואה, מניעה, טיב טיפול, תוצאות טיפול באוכלוסייה מוגדרת ובנקודת זמן מסוימת- היום אתמקד בנושאים לעיל באוכלוסיית החולים עם אי ספיקת כליות כרונית חריפה ובאוכלוסיית החולים עם אי ספיקת כליות כרונית.

מדד איכות ברפואה מודד ומבטא באופן כמותי את הפער בין ערך המדד בפועל לבין היעד שהארגון קבע לעצמו – רוב המדדים הם מדדי יחס, כלומר אחוז האנשים מתוך קבוצה מוגדרת, שמתקיים לגביהם תנאי מסוים. היום נעסוק בעיקר בבדיקות מעבדה שונות המשמשות כמדד לאיכות הטיפול הנפרולוגי. החל משימוש בתפקודי כליה בעיקר באבחון אי ספיקת כליות חדה ועד שנויים ברמות המוגלובין, ביוני כסידן, זרחן, שנויים ברמות הורמונים כגון פארתהורמון (PTH) כמדדי איכות לטיפול בחולים עם אי ספיקת כליות כרונית ובחולים המטופלים בדיאליזה. מדדי האיכות המדדים לעיל וההנחיות הטיפוליות הנובעות מהם מבוססים הן על מאגרי מידע בארץ ובעולם והן על הנחיות מקצועיות בינלאומיות:

USRDS ו- KDIGO - KIDNEY DISEASE IMPROVING GLOBAL OUTCOME.

ניהול אחראי מחייב את הרופא ו/או הארגון להכיר את נתוני הביצוע שלו טוב יותר מכל אחד אחר. מדידת איכות רפואית היא כורח המציאות בעידן הרפואה המודרנית בה מורכבות מקצוע הרפואה מלווה ביותר מידע, יותר התמחויות, יותר טיפולים, יותר מחלות כרוניות, יותר דרישות, יותר עלויות. מדידה מובילה לשיפור איכות הטיפול הרפואי.

כרופאים וכמנהלים רפואיים אנחנו מודעים לחשיבות ולתרומת המדידה לשיפור האיכות הרפואית. זהו אינטרס מובהק שלנו, לקדם את הנושא באופן מושכל, תוך הכרה ביתרונות הרבים הגלומים בכך והתחשבות בכל המכשולים האפשריים תוך ראיית כל השימושים האפשריים במדדי איכות רפואית.

מדדי האיכות מאפשרים קבלת מידע על ביצוע ומאפשרים תכנון תכניות לשיפור האיכות והטיפול הרפואי, משמשים ארגונים למטרות אקדמיטציה ורישוי - אבטחת כשירות ספקי השירות הרפואי, מאפשרים פרסום מידע לציבור – לקוחות (מבטחים ו/או מטופלים) יכולים לבחור באופן מושכל את ספק השירות המועדף עליהם ולבסוף בעולם החלו להכניס גם תגמול על איכות הטיפול – Payment for Performance (P4P). מדדי האיכות מאפשרים הערכה כמותית ואובייקטיבית של יישום קליני יעיל של רפואה נאותה, המבוססת על עדויות מדעיות, נותנים מידע רציף ומדויק על תוצאות קליניות, שביעות רצון לקוחות, תפקוד המערכת ושימוש מושכל במשאבים כמו כן מאפשרים איתור ליקויים ופיתוח תוכניות שיפור על בסיס תחזיות אמינות והן מאפשרים מעקב אחר השפעת תהליכי השיפור שננקטים.

השימוש בבדיקות המעבדה כמדדי איכות בנפרולוגיה עליהם אתמקד יהיו קשורים באבחון ומניעה של אי ספיקת כליות חדה, אי ספיקת כליות כרונית ובחולים המטופלים בדיאליזה והיו מבוססים על הנחיות מקצועיות בינלאומיות לראשונה Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) 2003 ומתעדכנים כל הזמן בתחומים טיפוליים שונים. **מטרתם שיפור הטיפול ותוצאותיו בחולים עם אי ספיקת כליות בעולם, על ידי שפור הקואורדינציה, שפור שתוף הפעולה וההטמעה של הנחיות רפואיות קליניות.**

Old and New Biomarkers for Kidney Diseases: Creatinine, eGFR, Cystatin C & more....

Dr Marielle Kaplan, PhD, Laboratory of Clinical Biochemistry, Rambam health Care Campus, Haifa, Israel

Kidney diseases, both acute and chronic, remain associated with high morbidity and mortality, despite progress in medical care. Chronic kidney diseases (CKD) are a major health problem worldwide with dramatically rising incidence and prevalence often in association with cardiovascular diseases. Moreover, kidney diseases management is mainly protective and acute kidney diseases (AKD) when not properly diagnosed and treated can lead to kidney failure and a need for dialysis. Therefore, the identification of effective markers of changing kidney function is a priority in clinical nephrology.

Glomerular filtration rate (GFR) is used universally to measure kidney function and serum creatinine has been most commonly used to detect reductions in GFR using eGFR (estimated GFR). Despite improvements in methodology, serum creatinine test is mainly based on the classic, 100-years old Jaffe reaction and it is the most common test for kidney function assessment. There are major limitations to the use of serum creatinine to estimate kidney function and it is insensitive as an early marker of CKD or AKD. Creatinine levels are affected by age, race and gender as well as by any pathologies affecting muscle functioning. Currently, there are about 46 different equations for estimating GFR using creatinine, the most common being the MDRD. However, these equations have not been validated across all clinical presentations. For example, the MDRD equation derived with chronic kidney disease (CKD) patients underestimated GFR in healthy persons. Finally standardization of creatinine remains an issue and it is now required to use IDMS (isotope dilution mass spectrometry method)-traceable creatinine methods in order to calculate eGFR. Therefore reliable early-detecting biomarkers for kidney diseases are still needed.

Cystatin C (CysC) has been recognized as a promising marker of GFR. Studies demonstrated that CysC could be used as a marker to replace or to supplement serum creatinine-based estimates of GFR. Since Cys C is not affected by muscle mass, it is not influenced by age or gender and can be used in children over 1 year old. Moreover, Cystatin C-based equations may offer an advantage over the MDRD equation in kidney transplant recipients. Additional renal biomarkers have been recently added to the list of kidney functions biomarkers including neutrophil gelatinase-associated lipocalin, kidney injury molecule-1, and liver-type fatty acid-binding protein. Overall, more studies are needed to assess the proper use of these new tests within modern clinical nephrology.

The Anion Exchanger Pendrin: A New Molecular Player in the Regulation of Body Fluid Volume

Prof. Israel Zelikovic, MD - Pediatric Nephrology Unit ,Rambam Medical Center ,Laboratory of Development Nephrology, Department of Physiology and Biophysics, Faculty of Medicine, Technion

Pendrin (SLC26A4), a Cl⁻/anion exchanger encoded by the gene PDS is highly expressed in the kidney, thyroid and inner ear epithelia. Mutations in human PDS (hPDS) lead to Pendred syndrome, characterized by sensorineural hearing defect and thyroid goiter. In the kidney, pendrin functions as an apical Cl⁻/HCO₃⁻ exchanger in β -intercalated cells of the cortical collecting duct (CCD). In addition to its role in secreting bicarbonate and maintaining acid-base balance, pendrin is also involved in NaCl balance and blood pressure regulation. We have shown that pendrin is transcriptionally regulated by systemic pH, aldosterone and ambient Cl⁻ level in renal epithelial cells. However, the cellular and molecular mechanisms controlling pendrin activity in the renal epithelium remain to be established.

The intestinal peptide uroguanylin (UGN) is produced in response to oral salt load and can function in the kidney as an "intestinal natriuretic hormone." The exact modes of action of UGN in the renal tubule remain poorly understood. We investigated whether UGN modulates pendrin activity and explored the molecular mechanisms responsible for this modulation. Injection of UGN into mice resulted in decreased pendrin mRNA and protein expression in the kidney. UGN decreased endogenous pendrin mRNA levels in HEK293 cells. A 4.2-kb human PDS (hPDS) promoter sequence and a series of 5' progressive deletion products were cloned into luciferase reporter vectors and transiently transfected into HEK293 cells. Exposure of transfected cells to UGN decreased hPDS promoter activity. This UGN-induced effect on the hPDS promoter required a 52-bp region encompassing a single heat shock element (HSE). The effect of UGN on the promoter was abolished when the HSE located between nt -1119 and -1115 was absent or was mutated. Furthermore, treatment of HEK293 cells with heat shock factor 1 (HSF1) small interfering RNA (siRNA) reversed the UGN-induced decrease in endogenous PDS mRNA level in parallel with decreasing HSF1 mRNA level.

In conclusion, pendrin-mediated Cl⁻/HCO₃⁻ exchange in the renal tubule may be regulated transcriptionally by the peptide hormone UGN. UGN exerts its inhibitory activity on the hPDS promoter likely via HSF1 action at a defined HSE site. These data define a novel signaling pathway involved in the enterorenal axis controlling electrolyte and water homeostasis.

אבחון שחפת חבויה - 100 שנים מבדיקת המנטו לאינטרפרון

ד"ר יובל גפן - המעבדה למיקרוביולוגיה קלינית – רמב"ם הקריה הרפואית לבריאות האדם

שחפת הינה מחלה זיהומית מדבקת ממנה מתים בכל שנה כ 1.5 מיליון בני אדם ברחבי העולם. בנוסף, כשליש מאוכלוסיית העולם (כ-2 מיליארד בני אדם!) נושאים את החיידק גורם המחלה, *Mycobacterium tuberculosis*, ובכך מוגדרים כנושאים של שחפת חבויה (Latent TB infection). אדם הסובל משחפת חבויה הוא כזה שנחשף בשלב כלשהו של חייו לחיידק השחפת ונושא אותו בגופו בכמות קטנה אשר אינה גורמת לסימפטומים של מחלה, אינה מדבקת, ואינה ניתנת לאבחון ישיר בעזרת צילום ריאות או בדיקת דגימות מדרכי הנשימה. עם זאת, קיים סיכוי של כ 5-10% להתפתחות מחלת שחפת פעילה ממצב של שחפת חבויה. סיכוי זה גדל בצורה משמעותית באנשים בעלי מערכת חיסונית מוחלשת.

בשל כך, אדם המאובחן כנושא שחפת חבויה, נאלץ לקבל טיפול אנטיביוטי משולב וממושך, הגורם במקרים רבים לתופעות לוואי קשות.

במשך כ-100 שנים, מאז ימיו של רוברט קוך בתחילת המאה הקודמת, השיטה היחידה לגילוי שחפת חבויה הייתה שיטת התבחין העורי - מנטו (Tuberculin Skin Test – Mantoux). שיטה זו מתבססת על הזרקה תת עורית של מיצוי חלבוני חיידק השחפת ומדידת קוטר התגובה האימונית לתכשיר. שיטה זו הינה זולה ופשוטה לביצוע אך מושפעת בצורה משמעותית מגורמים כגון: קבלת חיסון BCG בעבר, זיהום בחיידק מיקובקטריה שאינו שחפת ומערכת חיסונית מוחלשת. כתוצאה מכך, סובלת השיטה מרמות רגישות וסגוליות נמוכות, הבאות לידי ביטוי באחוזים גבוהים של אבחון שגוי, הן חיובי והן שלילי.

במהלך העשור האחרון, הוכנסה לשוק טכנולוגיה חדשה לאבחון שחפת חבויה המבוססת על שחרור אינטרפרון גמא (Interferon γ release assays – IGRA). בשיטה זו, המבוססת על בדיקת דם פשוטה, נבדק שחרור אינטרפרון גמא מתאי הדם הלבנים כתוצאה מחשיפה לאנטיגנים ייחודיים לחיידקי השחפת. שיטה זו מאופיינת ברמות רגישות וסגוליות גבוהות בהשוואה לבדיקת המנטו.

מדינות רבות בעולם, ובכללן ישראל, שוקלות בימים אלו את מדיניות אבחון השחפת החבויה בקרב אוכלוסיות שונות כגון: מהגרים, עובדי מערכות בריאות ומדוכאי חיסון.

Tuberculous phospho-pantothenic transferase PptT activates AcpM, the acyl carrier protein for mycolic acid biosynthesis in mycobacteria.

Oren Zimhony^{1*} ¹Alon Shwartz^{2*}, Yoav Peleg³, Orly Dym³, Shira Albeck³ Yigal Burstein⁴
and Zippi Shakked²

¹Kaplan Medical Center, affiliated to the school of Medicine Hebrew University Jerusalem POB 1 Rehovot Israel ,
²Structral Biology Department, ³Israeli Structural Proteomic Center, ⁴Organic Chemistry Department, Weizmann
Institute of Science, Rehovot, Israel.

Drug resistant tuberculosis is widely distributed and is a major threat. Fatty acid biosynthesis is an essential process for cell survival, and is particularly proficient and complex for mycobacteria and related species that produce mycolic acids, the main component of mycobacterial cell wall, which plays a major role in virulence and drug resistance. Various steps in the synthesis of mycolates are targets for first and second-line anti-tuberculosis agents. Mycobacterial fatty acid synthase 1 (FAS-I) generates and elongates long chain (C16:0-26:0) acyl-CoA derivatives that serve as the precursors for the syntheses of polyketides and C56:0 fatty acids designated as meromycolate by fatty acid synthase 2 (FAS-II). The elongated acyl intermediates throughout fatty acid synthesis are attached to an acyl carrier protein (ACP).

The acyl intermediates in fatty acid and mycolic acid synthesis are bound to an acyl carrier protein (ACP) domain within the multifunctional fatty acid synthase I (FAS I) and polyketide synthases (PKS), or to an ACP protein of the FAS-II system (ACPM). The inactive apo-form of ACPs is converted to the holo-form by the covalent attachment of a 4'-phosphopantetheinyl moiety of CoA to a conserved serine residue mediated by a phosphopantetheine transferase (PPTase).

Two genes encoding PPTases, *Rv2523* and *Rv2794*, were identified in *M. tuberculosis* H37Rv encoding: AcpS which activates FAS I, and PptT which activates several PKSs, ACPM was assumed to be activated by AcpS, as in other bacterial species. Both PPTases were found to be essential. Analysis of the AcpS structure, revealed that unlike other AcpS-es it is negatively charged and lacks key basic residues that were reported to allow interaction with ACP. We subjected purified apo-ACPM to AcpS or to PptT *in-vitro*, and assessed their bioactivity by the band shift of holo-ACPM using SDS-PAGE followed by mass spectrometry. Interestingly, we found that PptT activates AcpM, like *B.Subtilis* PPTase Sfp^{NEB} while AcpS did not activate ACPM. Phosphopantetheine transfer to ACPM by PptT showed typical kinetics, was CoA dependent and ACPM S41A was not activated. Thus, PptT is likely the principle PPTase activator for meromycolic acid synthesis, condensation and modification. PptT activates a blue pigment synthase BPSA which is a non ribosomal peptide synthase(NRPS) from *Streptomyces lavandulae*. Activated BpsA produces indigoidine a blue pigment that enable rapid and flexible assessment of PptT activity and screen for new inhibitors of PptT that can be used as novel therapeutics for resistant Mtb.

1. EVALUATION OF THE DIASORIN LIAISON® XL SYSTEM VS. ABBOTT ARCHITECT FOR DETERMINATION OF VIRAL HEPATITIS MARKERS

Adler Ruth, Barsuk Rimma, Shouval Daniel and Safadi Rifaat.

Liver Unit, Hadassah University Hospital,

PO Box 12000, Jerusalem, Israel, 91120. radler@hadassah.org.il

Aims: Assays for hepatitis markers are used to determine exposure, infection and status of immunity to viral hepatitis. These tests must be highly sensitive, specific and accurate. The objective of the evaluation was to compare hepatitis marker determination capabilities of the DiaSorin LIAISON® XL (LXL) system to the Abbott AxSYM and Architect (Arch) systems.

Methods: Commercial seroconversion panels for HBsAg and Anti-HCV were tested on both systems. Sensitivity and specificity for detection of HBsAg mutants were assessed on the LXL and Arch analyzers. Serum samples positive for hepatitis markers were serially diluted and tested in order to define sensitivity and LOD. Linearity of quantitative HBsAg and anti-HBs was determined using WHO international standards. Problematic samples (dialysis patients, pregnant women) were assayed on all systems.

Results: LXL and Arch systems were equally sensitive to seroconversion panels. The LXL HBsAg Quant was reactive for all mutants while Arch failed to detect one. LXL anti-HBs II was linear through 5 to 1000 mIU/ml anti-HBs ($r^2 = 0.994$). Problematic anti-HCV samples were compared and INNO-LIA was used to determine specificity – for each method 2-3/15 results were not confirmed by INNO-LIA. Sensitivity determined by serial dilution was equal for all markers assayed. LXL anti-HBc IgM was more sensitive than Arch.

In conclusion: The DiaSorin LIAISON® XL is equally sensitive, specific and accurate as the Abbott Architect system.

2. ערכי הייחוס של קריאטינין בדם עבור ילדים: המלצת היצרן במבחן המעבדה

ורד קופל, סנדרה אלבוים וברכה שיינברג - מעבדה מרכזית – מכבי שרותי בריאות, המדע 9, פארק המדע רחובות 76703

רקע:

קריאטינין בדם מהווה סמן חשוב להערכת תפקודי הכליה. סוגיית ערכי הייחוס לקריאטינין נדונה בהרחבה בוועדה של ה-IFCC (1) אשר סרקה את כל הספרות שהתפרסמה בנושא עד שנת 2008. בילדים הוועדה המליצה לאמץ ערכי ייחוס המתבססים על המאמר של Schlebusch et al. (2). בעלון חברת Beckman coulter מצוטט מאמר זה אך ערכי הייחוס אינם זהים לכתוב במאמר. באמצעות שיטת Hoffmann (3) ניתן, במעבדות קהילתיות, לבחון את ההתאמה של ערכי הייחוס בהסתמך על תוצאות המעבדה.

מטרה:

בחינת ההתאמה של ערכי הייחוס לקריאטינין בילדים המתפרסמים בעלון חברת Beckman Coulter לתוצאות המתקבלות במכבי שרותי בריאות, באמצעות שיטת Hoffmann ולערכים המדווחים בספרות.

שיטות:

שיטת הופמן מאפשרת קביעה ואימות של ערכי ייחוס ללא בחירה של נבדקים "בריאים". שיטה זו מתאימה למעבדות קהילתיות בהן הנבדקים ברובם בריאים וכן עבור אנליטים להם מתקבלת התפלגות נורמלית. בשיטה זו, חריגים ואוכלוסיית ה"חולים" מופרדים סטטיסטית באמצעות שרטוט של עקומת תדירות מצטברת של התוצאות ביחס לריכוז האנליט. העברת הקו הישר באזור ה-50% המרכזיים מוציא את אוכלוסיית ה"חולים" משני קצוות העקומה. אקסטרפולציה של הקו הישר לאחוזונים 2.5 ו-97.5 מאפשרת חישוב של הגבול העליון והתחתון של ערכי הייחוס. מהמערכת הממוחשבת של מעבדת מכבי שרותי בריאות נאספו 14,325 תוצאות קריאטינין של ילדים בגילאי 1-14 שנים. הבדיקות בוצעו במכשיר Beckman coulter-AU5400. ערכי הייחוס חושבו לפי התפלגות הגילאים.

תוצאות:

תוצאות ערכי הייחוס (RI) שהתקבלו מפורטות בטבלה

Beckman Coulter - עלון		תוצאות מכבי שרותי בריאות בשיטת Hoffmann	
Age	RI (mg/dl)	Age (Y)	RI (mg/dl)
child	0.26-0.77	1 to < 3	0.1- 0.3
		3 to < 5	0.18- 0.36
		5 to < 7	0.24- 0.42
		7 to < 9	0.29- 0.47
		9 to < 11	0.33 - 0.54
		11 to < 13	0.4 - 0.6
		13 to < 15	0.4 - 0.75

דין ומסקנות:

בעבודתנו הראתה שערכי הייחוס בילדים המפורסמים בעלון החברה אינם מתאימים לערכי הייחוס המתקבלים באנליזה רטרופספקטיבית של תוצאות קריאטינין באמצעות שיטת Hoffmann. ראוי לציין שנראית עליה בערכי הייחוס עם העלייה בגיל הילדים. הערכים שהתקבלו בעבודתנו מתאימים לערכים שפורסמו במאמר של Schlebusch et al. (2) וכן לתוצאות שהתקבלו במאמר של Colantonio et al. (4). ראוי להדגיש את חשיבות בחינת ערכי הייחוס המומלצים על ידי היצרן ומידת התאמתם לאוכלוסייה הנבדקת.

References:

1. Ceriotti et al, Clin Chem 2008;54:p559
2. Schlebusch et al, J Lab Med 2002;26:p341
3. Hoffmann, JAMA 1963;185: p864
4. Colantonio et al, clin chem 2012;58:p854

3. LABORATORY TESTS FOR HEPARIN-INDUCED THROMBOCYTOPENIA: CORRELATION OF THE FUNCTIONAL FLOW CYTOMETRIC ASSAY WITH THE ANTIGENIC ASSAY

Cipok M¹, Kay S¹, Levy Y¹, Bar On S¹, Naparstek E¹, Tomer A^{1,2}, Deutsch VR¹

¹The Hematology Institute, Tel Aviv Sourasky Medical Center, Sackler Faculty of Medicine, Tel Aviv University, Tel Aviv, Israel. ²Institute of Hematology and Blood Bank, Soroka University Medical Center, Beer-Sheva, Israel

Background: Heparin-induced thrombocytopenia (HIT) is a serious complication of heparin treatment, associated with morbidity and mortality. HIT is characterized by thrombocytopenia and an increased risk for thrombotic complications secondary to the formation of IgG antibodies (Ab), against a complex of heparin-bound platelet factor 4 (PF4). The pathophysiologic mechanism involved the binding of the heparin complex with platelet-Fc-receptor, resulting in platelet activation, that is followed by the clinical manifestation. The diagnosis of HIT is based on clinical pre-test probability score, and laboratory documentation. Laboratory testing for the diagnosis of HIT is based on either a) immune detection of antibodies directed against the PF4/heparin complex (ID-H/PF4-PaGIA or ELISA) or b) the functional assay demonstrating the capacity of the patient's serum to activate platelets in the presence of heparin. Thus, the functional assay correlates more closely with the *in vivo* pathophysiologic phenomena, and is more specific than the antigenic assay. The "gold standard" functional assay is based on [¹⁴C] serotonin release (¹⁴C-SRA). However, it uses radio labeled reagents and requires considerable expertise to obtain reproducible and reliable results.

Aim: In our laboratory we have studied the utility of an alternative functional, nonradioactive flow cytometry (FC) assay based on detection of platelet activation by patients antibodies (1, 2).

Results: The results of the FC assay were compared with the standard ID-H/PF4-PaGIA antigenic assay. For the later assay, we also employed a dilutions at titers of 1:16 to 1:32 of the sera to assess the specificity, based on a recent report (3), and correlated the results with to the functional flow cytometric assay. The results showed that serum samples that were HIT positive by FC were 16% from those patients with a positive HIT in the standard ID-H/PF4-PaGIA antigenic assay. Additionally, we found that 80% of the samples that remained positive at serum dilutions of 1:16 and 1:32 using the ID-H/PF4-PaGIA were HIT positive by FC.

Conclusion: Our findings suggest that the functional FC with its present modifications is a practical, sensitive, and more specific test for reliably confirming the diagnosis of HIT.

References:

1. Tomer, A. A sensitive and specific functional flow cytometric assay for the diagnosis of heparin-induced thrombocytopenia. *Br J Haematol*, 98: 648-656, 1997.
2. Tomer, A., Masalunga, C., and Abshire, T. C. Determination of heparin-induced thrombocytopenia: a rapid flow cytometric assay for direct demonstration of antibody-mediated platelet activation. *Am J Hematol*, 61: 53-61, 1999.
3. Nellen, V., Sulzer, I., Barizzi, G., Lammle, B., and Alberio, L. Rapid exclusion or confirmation of heparin-induced thrombocytopenia: a single-center experience with 1,291 patients. *Haematologica*, 97: 89-97, 2012.

4. Resistance of *Helicobacter pylori* to Tetracycline, Amoxicillin, Clarithromycin and Metronidazole in Israeli children and adults

Avi Peretz Ph.D¹, Avi On M.D², Diana Brodsky M.Sc¹, Tatyana Glyatman M.Sc¹, Sofia Segal, M.A², Maya Paritsky M.D³

¹ *Clinical Microbiology Laboratory.* ² *Pediatric Gastrointestinal Unit,* ³ *Gastrointestinal Unit.*
Baruch Padeh Medical Center, Poria, Tiberias

Objectives: The aim of this study was to examine *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) resistance rate in response to different types of antibiotics: Tetracycline, Amoxicillin, Clarithromycin and Metronidazole, and to compare response rate for adults and children in Israel. Study hypothesis was high resistance rate to Clarithromycin and Metronidazole, especially in an adult group, and low resistance rate to Tetracycline and Amoxicillin.

Methods: 176 biopsies from patients with dyspeptic symptoms were cultured, 100 from adults (ages 19-79 years) and 76 from children (ages 7-17 years). All positive cultures were examined by E-test for MIC determination to Tetracycline, Amoxicillin, Clarithromycin and Metronidazole.

Results: 48.3% (85 out of 176 samples) were *H. pylori* positive, 44% from the adult group and 54% from the children group. Antibiotic resistance in the adult group was present in 31 out of 44 (70.5%) samples for Metronidazole, 1 out of 44 (2.3%) for Amoxicillin, 10 out of 44 (22.3%) for Clarithromycin and 1 out of 44 (2.3%) for Tetracycline. Antibiotic resistance in the children group was present in 10 out of 41 (24.4%) samples for Metronidazole, 5 out of 41 (12.2%) for Amoxicillin, 10 out of 41 (24.4%) for Clarithromycin and 1 out of 41 (2.4%) for Tetracycline.

Conclusions: A high rate of *H. pylori* resistance to Metronidazole and to Clarithromycin was found, especially among adults. Therefore, in order to raise the success rate of anti-*H. pylori* treatment, wider use of other groups of antibiotics that today are considered as second line treatment, is recommended.

5. The role of a prothrombinase - Fibrinogen-like protein 2 (FGL-2) in angiogenesis and tumorigenesis

Rabizadeh E^{1,2}, Lederfine D¹, Yosipovitz O³, Rosenbaum E⁴, Inbal A^{1,5}

¹Hemato-Oncology Laboratory, Felsenstein Medical Research Center, ²Hematology Laboratory, ³Urology Department, ⁴Oncology Institute, ⁵Thrombosis and Hemostasis Unit, Hematology Institute, and Beilinson Hospital, Sackler Faculty of Medicine Tel Aviv University, Israel

Background: Hematologic and solid tumors are associated with hypercoagulability the reason for which has not been delineated. Prothrombinase named fibrinogen-like protein 2 (FGL-2) is a 70 kD transmembrane protein that was found to have a quality of a serine protease capable of directly cleaving prothrombin to thrombin. FGL-2 is synthesized by monocytes, T-lymphocytes and endothelial cells. FGL-2 protein and its mRNA have been previously found within different tumor cells. In our previous work we found that FGL-2 activity was increased in peripheral blood mononuclear cells (PBMC) from patients with prostate, colon and lymphoproliferative malignancies. Our hypothesis is that upregulation of FGL-2 activity in cancer patients may contribute to angiogenesis and tumorigenesis.

Aim: To study the role of FGL-2 in angiogenesis and tumor development using *in vitro* and *in vivo* assays.

Methods: Thrombin generation reflecting FGL-2 activity was measured in different cells after addition of prothrombin. mRNA of FGL-2 was measured in PBMC, HUVEC and PC3 (human prostate carcinoma cell line) by quantitative RT-PCR analysis. *In vitro*, FGL-2 angiogenesis induction was evaluated by matrigel assay. *In vivo*, FGL-2-induced tumor development was tested in SCID mice after injection of PC3 cell line, which has increased FGL-2 activity or PC3 cell line where FGL-2 activity was inhibited by specific siRNA.

Results: Increased mRNA of FGL-2 was found in PBMC from patients with either lymphoma, prostate or colon cancer and in PC-3 cell line. Following treatment of HUVEC and PC-3 line with interferon-gamma the amount of mRNA increased even further. FGL-2 activity was knocked out in either HUVEC or PC3 by specific siRNA. *In vitro*, a significant angiogenesis was observed in matrigel assay after addition of PC3 cells with intact FGL-2 while addition of PC3 with knock out FGL-2 completely inhibited blood vessel formation. Addition of hirudin had no effect on angiogenesis indicating that FGL-2 mediated pro angiogenetic effect is not induced by thrombin.

PCR array of HUVEC with knock out FGL-2 using specific panel of human angiogenesis genes revealed a 500-fold decrease in the expression of Epidermal growth factor gene and Insulin-like growth factor 1.

In vivo, tumor development in SCID mice after injection of PC3 cell line with or without FGL-2 activity was assessed. Nine out of ten mice injected with PC3 expressing FGL-2 developed tumors after 3 weeks. In contrast, out of five mice injected with blocked FGL-2 clone of PC3, three have not developed tumors at all, and the remaining two showed small undefined cluster of cells at the injection site. Precise histopathology analysis of all the mice will be done at week 6 after the injection.

Conclusions: The results of this research indicate that FGL-2 may induce angiogenesis and tumor development. In the future FGL-2 targeting may have a potential therapeutic value, and the level of FGL-2 activity can be used as a cancer biomarker .

6. VALPROIC ACID IN COMBINATION WITH CHEMORADIOTHERAPY USING GEMCITABINE FOR ENHANCED TREATMENT OF PANCREATIC CANCER

Vladimir Gavrilov,¹ Yaron Leibovich,² Samuel Ariad,² Konstantin Lavrenkov² and Shraga Shany¹

Department of Clinical Biochemistry¹ and Department of Oncology², Soroka Medical Center and Faculty of Health Sciences, Ben-Gurion University of the Negev.

Introduction: Pancreatic cancer (PaCa) is the 4th most common cause of death from malignancy. A considerable number of PaCa patients first present with locally advanced unresectable disease. For these patients, concurrent chemoradiotherapy (CCRT) using gemcitabine (Gem) is a standard treatment. However, results remain dismal. The aim of the present study was to design an effective treatment for unresectable locally advanced PaCa. The recurring evidence that valproic acid (VPA) effectively sensitizes cancer cells to DNA-damaging agents due to its histone deacetylase - inhibiting activity prompted us to inquire whether combination of VPA with Gem-based CCRT would ultimately enhance the response of PaCa to Gem-based CCRT treatment. This hypothesis was tested in an *in vitro* system.

Methods: PaCa cell line Panc-1 was treated for 48 h with 10 nM Gem or 2 mM VPA, or their combination followed by ionizing radiation (IR) with a dose of 2 Gy. Cells were incubated for additional 120 h. The effects of treatments on cell proliferation, cell-cycle and apoptosis were evaluated.

Results: Treatment of Panc-1 cells with 10 nM Gem, 2 mM VPA or 2 Gy IR alone decreased cell growth by 37.0%, 34.0% and 15.1%, respectively. Combination of Gem and VPA was more effective and decreased proliferation by 54.6%. Combination of IR with either Gem or VPA suppressed cancer cell proliferation by 46.0%. However, triple combination of agents was mostly efficient and decreased proliferation by 67.9%. The cell growth-inhibiting effect of treatments was a result of both cell-cycle arrest in S-phase and enhanced apoptosis. The pro-apoptotic effect was particularly pronounced in cells treated with the combination of Gem and VPA, and in cells challenged with the combination of 3 agents.

Conclusions: The results are consistent with our hypothesis that co-administration of VPA may enhance the anticancer activity of Gem-based CCRT in PaCa.

7. AGNO PROTEIN IS INVOLVED IN THE INDUCTION OF DNA DAMAGE, LEADING TO THE FORMATION OF TRUNCATED AGNO STRAINS UNABLE TO REPLICATE OR INFECT HOST CELLS

Tsachi Tsadok Perets^{1,2}, Ella Mendelson^{1,2}, Ronit Sarid¹, Lester Michael Shulman²

¹The Mina and Everard Faculty of Life Sciences, Bar Ilan University, Ramat Gan, Israel

²Central Virology Laboratory, Ministry of Health, Sheba Medical Center, Tel Hashomer, Israel

Polyomavirus BK (BKV) primary infection occurs at an early age; it is usually asymptomatic and results in sero-conversion of 80% of the adult population that leads to a latent state. Reactivation in kidney transplant (KT) recipients is associated with immune-suppression and up to 10% of them may develop polyomavirus associated nephropathy (PAN).

BKV encodes a 66 amino acids 7.5kDa basic (pI=10.6) protein – Agno, which contributes to viral replication, early viral gene expression, processing of capsid proteins and virion assembly.

In this study we sequenced the Agno gene from urine and plasma samples of KT recipients with PAN. We were surprised to find mutated strains with major rearrangements in their Agno gene.

We reconstructed the Agno strains by inserting the rearranged Agno DNA into a WW backbone.

Viral load tests, viral DNA replication and gene expression of the host cell DNA repair mechanisms were used to characterize the effects conferred by the Agno rearrangements.

Agno deletions substantially decreased viral yield, but not the viral DNA replication. Trans-complementation with an intact Agno increased viral replication, but was ineffective for infection with third generation viruses.

Agno had an effect on the transcription of DNA repair genes which implies its involvement in inducing rearrangements in the Agno gene itself.

In conclusion it is apparent that during BKV reactivation, rearrangements occur in the Agno gene and the Agno protein is involved in inducing these rearrangements. We assume that BKV overcomes the negative effect of the deletions by trans-complementation with WW and other intact strains.

8. Rearrangements in the non-coding regulatory region of BKV strains obtained from a renal transplant patient alter viral replication, late gene expression and cytopathology in vitro

Tsachi Tsadok Perets^{1,2} Lester Michael Shulman² Ronit Sarid¹ Ella Mendelson^{1,2}

1. The Mina and Everard Faculty of Life Sciences, Bar Ilan University, Ramat Gan, Israel
2. Central Virology Laboratory, Ministry of Health, Sheba Medical Center, Tel Hashomer, Israel

Polyomavirus BK (BKV) establishes a latent infection in the majority of the adult population worldwide. Reactivation of BKV may lead to the induction of polyomavirus associated nephropathy (PAN) which is diagnosed in up to 10% of renal transplant (RT) patients. During reactivation, the non-coding regulatory region (NCRR) is prone to rearrangements, although their role in BKV virulence is undetermined.

In this study we have examined the rearrangements of our cloned NCRR library isolated from plasma and urine samples of an RT patient. Sequencing of the NCRRs revealed major rearrangements including insertions and deletions. We reconstructed the strains by inserting the rearranged NCRRs into WW backbone and used the recombinant DNA to transfect cell cultures.

The transfections analysis revealed that when compared to WW, strains with insertions in the NCRR (insNCRR) replicated faster in cell cultures, created a cytopathic effect more rapidly and had a higher ability to induce late viral gene expression. In contrast, strains with deletions (delNCRR) replicated more slowly, barely induced a cytopathic effect and had a lower ability to induce late gene expression. WW had the highest ability to induce early gene expression when compared to all other variants. Furthermore, in silico analysis demonstrated incorporation of replication factors binding sites (RFBS) in insNCRR strains and deduction of RFBS in delNCRR strains.

In conclusion it is apparent that insertions in the NCRR enhance BKV virulence by increasing the viral replication rate, cytopathic effect and the expression of viral proteins, while deletions in the NCRR demonstrate an opposite pattern.

9. CLINICAL ACCURACY AND USEFULNESS OF THE LACTOSE INTOLERANCE QUICK TEST FOR THE DIAGNOSIS OF LACTOSE MALABSORPTION

Tsachi Tsadok Perets PhD (1), Einav Shporn MSc (1), Yifat Bareli MSc (1), Lea Pakanaev MSc (1), Yaron Niv MD (2), Ram Dickman MD (2).

1. Gastroenterology Laboratory, Rabin Medical Center - Beilinson Hospital, Petah Tikva, Israel.

2. Division of Gastroenterology Rabin Medical Center - Beilinson Hospital, Petah Tikva, and Sackler Faculty of Medicine, Tel Aviv University, Israel.

Background: Lactose breath test (LBT) is considered the gold standard technique for the diagnosis of lactose malabsorption (LM). LBT is time consuming and often results in unpleasant gastrointestinal symptoms. The Lactose Intolerance Quick Test (LIQT) performed on duodenal biopsies, measures lactase activity and may offer an alternative to LBT.

Aims: To assess utility and to compare the efficacy of LIQT with LBT for the diagnosis of hypolactasia in symptomatic patients with or without LM.

Methods: Patients that underwent upper gastrointestinal endoscopy for the evaluation of post prandial bloating and abdominal discomfort were invited to participate in this study. In all participants, duodenal biopsies were obtained for histological evaluation and for the LIQT (Biohit, Helsinki, Finland). Shortly, the biopsies collected from the upper part of the small intestine were incubated in the test liquid containing lactose on a test plate. After 20 minutes a color reaction was obtained indicating normal, mild or complete absence of lactase activity within the specimen. All participants underwent a regular LBT and completed demographic questionnaires. The results of the two methods (where LBT served as the gold standard) were compared in order to define sensitivity, specificity, positive predictive value and negative predictive value of LIQT.

Results: Overall, 69 subjects underwent both tests and completed the questionnaires. Mean age, M/F ratio and mean BMI (kg/m²) were: 54.4 ± 18.6 yrs, 18/51 and 25.2, respectively. Celiac disease was ruled out by histological examination of duodenal biopsies in all participants. The LIQT identified LM in 55 patients (80%) including 14 (25%) patients with mild hypolactasia and 41(75%) patients with severe hypolactasia. The LIQT did not identify LM in 14 patients (20%) only. The LBT identified LM in 32 patients (46%) and did not identify LM in 37 patients (54%). Of those without LM by the LBT, 13 (35%) had normal lactase activity, 11 (30%) had mild hypolactasia and 13 (35%) severe hypolactasia by LIQT. The sensitivity, specificity, positive predictive value and negative predictive value of LIQT were 97%, 35%, 56% and 93% respectively.

Conclusion: In this study, the Lactose Intolerance Quick Test (LIQT) had an excellent sensitivity and effectively ruled out lactose malabsorption when the test indicated normal lactase activity. However the specificity and the positive predictive value of LIQT were poor as the test over diagnosed LM in almost two thirds of our participants that did not have LM by the LBT.

10. CHARACTERIZATION OF MACROLIDE RESISTANCE IN CAMPYLOBACTER JEJUNI AND CAMPYLOBACTER COLI IN ISRAEL

Hadeel Halloun-Habib¹, Moshe Efrat¹, Larisa Lerner², Vered Agmon², Pninit Shaked-Mishan³

¹Pediatrics Department, Carmel Medical Center, Haifa, Israel

²Central Laboratories, Ministry of Health, Jerusalem, Israel

³Microbiology Laboratory, Carmel Medical Center, Haifa, Israel

Introduction : Human *Campylobacter* enteritis is typically caused by *Campylobacter jejuni* (CJ) and *Campylobacter coli* (CC). Antibiotic resistance of *Campylobacter* species has increased worldwide, mainly to tetracyclines and fluoroquinolones, making macrolides the drug of choice. Little is known about the molecular mechanisms of CJ/CC macrolide resistance in local isolates .

Objectives: To characterize the major molecular mechanisms of macrolide resistance in Israeli human isolates of CC/CJ.

Methods 130 :clinical isolates of CJ and/or CC were selected from a national collection belonging to the Ministry of Health's Laboratory (collected 1999-2011). Antibiotic susceptibility (Disk diffusion test) was tested according to CLSI standards, and macrolide resistant isolates were subjected to TaqMan Real time PCR to reveal mutations responsible. This assay, using specific probes, can particularly identify three genotypes, wild type and two mutations of the 23S rDNA gene, A2074C, A2075G, both causing macrolide resistance in *Campylobacter*.

Results 99 of 130 (76%) isolates were resistant to ciprofloxacin, 100 (77%) to tetracyclines, and 43 (33%) to macrolides. No difference in resistance to azithromycin and erythromycin was observed. Among all 85 macrolide susceptible isolates, 58 (68%) were resistant to tetracyclines and 58 (68%) to ciprofloxacin. However, among 43 isolates resistant to macrolides, 41 were resistant to ciprofloxacin and 42 to tetracyclines (95% and 97%, respectively). The majority of resistant isolates were CC (76%). The predominant mutation found in those resistant to macrolides was A2075 (90%).

Discussion and Conclusions: In conjunction with previous international reports, the dominant mutation leading to macrolide resistance was A2075. Macrolide resistance remains minimal despite the extensive use of new macrolides .

11. **CRP EXPRESSION AND MODULATION IN DIFFERENT SUBTYPES OF MACROPHAGES: IMPLICATIONS IN THE PATHOGENESIS OF ATHEROGENESIS**

Shur Anna, Tendler Yevgeny, Kaplan Marielle.

Laboratory of Clinical Biochemistry, Rambam health Care Campus, Haifa.

Atherosclerotic plaque residents – macrophages, that are key players in the inflammatory processes in the artery wall, comprise a heterogeneous population, including several subtypes: pro-inflammatory (M1) and anti-inflammatory (M2). According to recent studies, C Reactive protein (CRP) is present in the arterial intima of atherosclerotic lesions. CRP locally produced by macrophages could directly participate in atherogenesis and other cardiovascular complications.

The primary aim of this study was to develop a system for induction of macrophages to M1 and M2 phenotypes. In addition, we analyzed whether there were differences in CRP expression in M1 versus M2 macrophages.

PMA-induced Thp-1 macrophages were used in this study. M1 phenotype induction was performed by cells incubation with $\text{INF-}\gamma$ and LPS, whereas M2 phenotype induction was performed by cells incubation with IL-4. M1 and M2 phenotype were assessed by measuring IL-6 and IL-10 levels in culture media, respectively. In addition, M2 phenotype was further characterized by measuring the level of expression of mannose receptor using FACS technique. CRP mRNA levels were measured both in M1/M2 cells by real time PCR. Moreover, intracellular levels of CRP protein were determined by immunohistochemistry staining.

Following concentrations-dependent studies, M1 phenotype differentiation was validated by macrophages incubation with 60ng/ml $\text{INF-}\gamma$ in the presence of 100ng/ml LPS. Moreover, M2 phenotype differentiation was validated following macrophages incubation with 60ng/ml IL-4. M1 pro-inflammatory phenotype showed significant increase in CRP mRNA expression by 68% and intracellular level of CRP protein by 108%. M2 phenotype exhibited no change in CRP expression (mRNA and protein) in comparison to control untreated cells.

Our data supports that elevated expression of CRP is characteristic of M1 pro-inflammatory macrophages, whereas induction of macrophages to M2 phenotypes does not induce CRP cellular expression. Therefore, switching the induction of macrophages from M1 pathway to M2 pathway could reduce CRP deleterious effects as well as the inflammatory cascade in the atherosclerotic plaque.

12. Integration of automated morphological features resolves a distinct group of atypical chronic lymphocytic leukemias with chromosomal aberrations

Ben-Zion Katz^{1,3,4}, Sigi Kay¹, Shoshana Baron¹, Rachel Rotman², Nili Dezorella¹, Rony Braunstein¹, Chava Perry¹, Elizabeth Naparstek^{1,3}, Jonathan Ben-Ezra^{1,3}, Aaron Polliack¹, Yair Herishanu¹ and Varda Deutsch¹

¹The Hematology Institute, ²The Genetic Laboratory, Tel-Aviv Sourasky Medical Center, Tel-Aviv, ³Sackler Faculty of Medicine, Tel-Aviv University, Tel-Aviv, Israel

⁴ E-mail: bkatz@tasmc.health.gov.il

Introduction: The diagnostic criteria for chronic lymphocytic leukemia (CLL) are based on peripheral blood B-lymphocytosis, with morphological and immunophenotyping features compatible with the disease. However, CLL consists of morphological and immunological phenotypic heterogeneity that in some patients presents a diagnostic challenge. In particular, identification and definition of atypical CLL is important, since it has been considered to associate with recurrent chromosomal aberrations and poorer outcome. Automated morphological assessment of peripheral blood slides has become an important modality facilitating characterization and uniform, rapid and robust quantification of cells. The objective of this study was to assess the capacity of the automated digital microscopy approach in the diagnosis of CLL, and to resolve morphological abnormalities.

Methods: Peripheral blood films of 80 chronic lymphocytic leukemia (CLL) patients were analyzed by the DM1200 CellaVision automated microscopy system. Aberrant lymphocytes and smudge cells were enumerated and correlated with CLL immunophenotype, prognostic parameters and clinical outcome. Clinical data and prognostic factors, including ZAP-70 and FISH were retrieved from the clinical files of the patients. The study was approved by the institutional Helsinki committee.

Results: CLL cells with an atypical morphology were classified to three major groups: The first was characterized by lymphocytes with irregular nucleus, the second included relatively large lymphocytes sometimes with immature nuclei and nucleoli, while the third group contained a variety of morphological abnormalities (e.g. small cells with mature nucleus with nucleoli). An increased proportion of morphologically aberrant lymphocytes were associated with trisomy 12, atypical immunophenotype (including CD23%<70%, FMC7>40%), and low CLL score (consisting of CD5⁺, CD23⁺, FMC7⁻ and dim surface immunoglobulin). CLL patients with $\geq 7.5\%$ aberrant lymphocytes had a shorter time from diagnosis to first treatment compared to patients with <7.5% lymphocytes with atypical morphology. While the percentage of smudge cells was extremely variable among patients, a low percentage of smudge cells correlated with trisomy 12, atypical immunophenotype and low CLL score. The most powerful index for morphological CLL scoring was the ratio between percentages of smudge cells to aberrant lymphocytes. Low ratio values highly correlated with an atypical immunophenotype ($p < 0.0001$) and trisomy 12 ($p = 0.0002$).

Conclusions: We demonstrate that automated morphological analysis of peripheral blood leukocytes may provide a powerful and robust tool for the quantitative morphological stratification of CLL. Integration of the automated morphological features discriminates between different CLL phenotypes and distinct chromosomal aberrations.

13. BORTEZOMIB-INDUCED PERIPHERAL NEUROPATHY IS RELATED TO ALTERED LEVEL OF BDNF IN THE CIRCULATING BLOOD

David Azoulay¹, David Lavie², Moshe E. Gatt², Celia Surio¹, Luiza Akria¹, Riki Perlman², Andrei Braester¹ and Dina Ben Yehuda²

¹Hematology unit, Western Galilee Hospital, Naharya, Israel 22100; ²Department of Hematology, Hadassah Hebrew University Hospital Ein-Kerem, Israel 91120

Peripheral Neuropathy (PN) is a major side effect and dose-limiting factor of Bortezomib treatment in multiple myeloma (MM). The exact mechanism underlying Bortezomib-induced PN (BIPN) is unknown, and the risk factors which increase susceptibility for developing this syndrome have yet to be elucidated. Brain Derived Neurotrophic Factor (BDNF) is a nerve growth factor which is responsible for the development, maintenance, and repair of the peripheral nervous system. Aim: In this work we examined alterations in the levels of BDNF in circulating blood of patients with multiple myeloma (MM) and searched for the relations of BDNF levels with BIPN development.

Methods: 22 patients with Multiple Myeloma were examined at diagnosis and under Bortezomib-based regimen. We used ELISA to quantify soluble BDNF (sBDNF) levels in patients' platelets-poor plasma (PPP) and flow cytometry or western blotting to quantify BDNF in platelets. PN was assessed and graded according to the cancer common toxicity criteria index.

Results: We found higher levels of sBDNF at diagnosis in patients who later developed BIPN compared with patients who did not develop BIPN. During treatment with Bortezomib, the level of sBDNF was significantly reduced in the group of patients that developed BIPN whereas the level in patients who did not develop BIPN remained equal to the level at diagnosis. Analysis of platelets, the main cellular storage of BDNF in the blood, revealed higher BDNF content in platelets of patients with BIPN compared with patients without BIPN. No difference in the number of platelets between patients with BIPN and patients without BIPN was observed. In vitro, addition of Bortezomib onto platelets rich plasma increased BDNF accumulation in the platelets and blocked the maturation of BDNF from its precursor peptide.

Conclusions: Our results suggest that alterations in the circulating blood level of BDNF may play a role in the pathophysiology of BIPN development and may serve as a useful biomarker for early detection of Bortezomib-induced BIPN. Detailed investigation regarding potential mechanisms by which BDNF is involved in BIPN is required.

14. EVALUATION OF THE AUTOMATED SYSTEM ALFRED60 FOR THE RAPID DIAGNOSIS OF URINARY TRACT INFECTION

Karem Athamna, Albira Zbriger, Tamar Shoshani, Ahuva Bachinsky, Bat Sheva Laufer and Sarit Freimann

Microbiology laboratory, Hillel Yaffe Medical Center, Hadera, Israel 38100

Urinary tract infections (UTIs) are the most common bacterial infection in the community and hospital populations. The traditional laboratory diagnosis of UTI is based on quantitative urine culture procedure that lasts at least 16-48 hours. Recently, an automated system – Alfred60 (Alifax, Italy) was suggested to give a rapid and reliable indication of UTI. The automated system is based on culturing urine in a liquid media, incubation in temperature controlled basket and monitoring the bacterial growth (media turbidity) by light-scattering up to 5 hours.

In this study we aimed to evaluate the performance of Alfred60 automated system as compared with the traditional urine culturing method.

A total of 886 urine specimens were tested. In all, 319 (36%) were positive in both methods and 536 (60.5%) urine specimens were considered negative in both methods. This data indicates that 855 out of 886 (96.5%) were in agreement between the two methods. However, 31 urine samples (3.5%) were incompatible between the two methods: while 11 samples (1.24%) showed bacterial growth by the Alfred system but not by the conventional method, 20 (2.26%) urine samples were positive by the conventional method but negative in the Alfred60 system. The calculated specificity was 97.9%, with positive predictive value (PPV) of 96.7%. The sensitivity was 94.7%, with negative predictive value (NPV) of 96.8%.

In conclusion, the Alfred60 automated system is easy to operate, rapid and reliable. Thus, the system allows the lab to shorten the turn-around time between urine sampling for culture and reporting of preliminary results, with high specificity and sensitivity values. This unique technology will allow clinicians to use the prompt data to choose the best strategy of treatment or avoid antimicrobial treatment in non-UTI cases.

15. Hypothyroidism detection in pregnancy: the laboratory point of view

Vered Kopel , Varda Nadler and Bracha Shainberg ,

Maccabi Health Care Services-Central Laboratory, Hamada 9, Rehovot, 76703

Background: Maternal Hypothyroidism during pregnancy has been largely associated with a range of adverse outcomes, most importantly miscarriage, preterm delivery and reduced cognitive function in offspring. Optimal treatment for hypothyroidism during pregnancy is recommended in preventing maternal and fetal morbidity. In 2007, Practice Guideline for the Management of thyroid dysfunction during pregnancy and postpartum was published. The American College of Obstetricians and Gynecologists recommended thyroid testing in high-risk pregnant women. The American Thyroid Association (ATA) recommended the use of trimester-specific reference ranges for TSH as follow: 0.1-2.5 mIU/L during the first trimester and 0.2-3.0 mIU/L or 0.3-3.0 mIU/L during the second and third trimester, respectively

Aim: The purpose of the present study was to provide a status description of the testing and positivity rates for hypothyroidism during pregnancy in Maccabi Healthcare Service

Methods: The Maccabi Healthcare computerized database of 2006 and 2010-2012, was screened for serum TSH and FT4 tests results in pregnant women. Detection of pregnancy, as well as gestational age at first serum TSH testing, was based on women's report. Pregnancy hypothyroidism was defined according trimester specific reference range recommended by the ATA. The number of pregnant women was estimated by the performance of routine pregnant tests as: CMV, Blood group, HCG and screening tests for Down syndrome .

Results: A significant increase in TSH testing rate was observed during 2010-2012 compared to 2006 (an average of 48% vs. 34% respectively). Later in the study, we chose to focus on data from 2010. Out of 50570 pregnant women, 23,686 were tested for TSH (47%). The Median gestation age at the first TSH testing was 9 weeks. 4860 of the tested women had increased TSH results (20%). The elevated TSH rate was not influenced by the women age. 3781 women with elevated TSH were tested for FT4 (78%), of them 152 women (4%) had decreased results. 55/152 (42%) had TSH levels less than 4 mIU/L and 97/152 (58%) had TSH levels above 4 mIU/L.

Conclusion:

Following the recommendation for detection of hypothyroidism in pregnant women published in 2007, the TSH testing rate in Maccabi Healthcare Service increased significantly. Our study showed that, according to the reference ranges recommended by the ATA, 20% of the tested women in 2010 had increased TSH level. 4% of the women with elevated TSH had decreased FT4 results, those results strongly support the reference limits recommended by ATA for TSH in pregnancy. It is important to note that trimester-specific FT4 reference ranges are not yet available. Additional studies are required for farther examination of the recommendation for Hypothyroidism detection in pregnant women.

16. בדיקה לאבחון CMV במי שפיר - סיכום ניסיון של שנתיים במעבדה בקהילה

ליסיטה שרייבר, מיכל טננבאום וברכה שיינברג
מעבדה ארצית – מכבי שירותי בריאות, רחוב המדע 9, רחובות 76703

מבוא:

הדבקה בנגיף הציטומגלו (CMV) במהלך הריון עלולה לגרום לפגיעה בעובר המתפתח. הסיכון להדבקה העובר גבוה יותר בזיהום ראשוני של האם בהריון או בסמוך לו מאשר הדבקה בזיהום שאינו ראשוני. השיטות הסרולוגיות המקובלות לאבחון זיהום ב CMV, הכוללות בדיקת נוגדנים ל CMV IgG, CMV IgM ו CMV IgG Avidity, מאפשרות איתור seroconversion בהריון ואבחון primary infection. בדיקות אלו אינן מסוגלות לנבא הדבקה עוברית ב CMV. הבדיקה האבחנתית המאפשרת איתור הדבקה עוברית ב CMV היא בדיקת מי השפיר לנוכחות הנגיף. בדיקה זו הינה בעלת יכולת ניבוי של 90-100% להדבקה עוברית בתנאי שהבדיקה מבוצעת במועד המתאים; דהיינו החל משבוע 21 להריון ולא פחות מ-6-8 שבועות ממועד ההדבקה המשוער.

מטרה:

הערכת השימוש בבדיקת CMV במי שפיר ע"י הרופאים במכבי וחשיבות הבדיקה בניבוי הדבקה עוברית בנגיף.

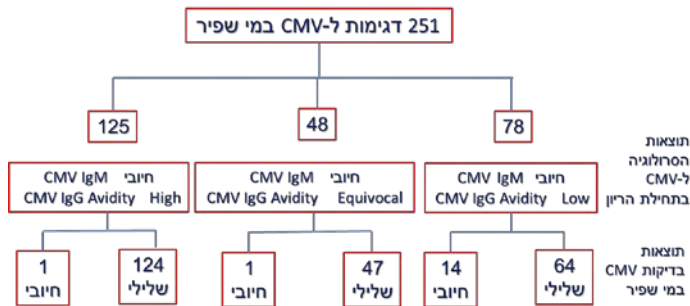
שיטות:

ניתוח רטרופסקטיבי של תוצאות בדיקות CMV במי שפיר וסרולוגיה ל CMV עבור נשים בהריון בשנים 2011-2012. בדיקות הסרולוגיה ל CMV כוללות:

- בדיקות CMV IgG, CMV IgM בשיטת ABBOTT, Architect-chemiluminescence
 - בדיקת CMV IgG Avidity בשיטת RADIM – ELISA
- בדיקת CMV במי שפיר מבוצעת בשתי שיטות: בדיקת Real Time PCR ותרבית תאים Shell Vial.

תוצאות:

- נבדקו 120,000 נשים בגיל הפוריות (18-50y) לסרולוגיה ל CMV:
26% נמצאו סרונוגטיביות (31,398/120,000) CMV IgG - שלילי ו CMV IgM שלילי.
1.1% (1328/120,000) נבדקו הדבקה ראשונית- CMV IgM חיובי ו CMV IgG Avidity נמוך כאשר 536 נשים נבדקו במהלך ההריון.
- נבדקו 251 דגימות ל CMV במי שפיר. כולן בעקבות CMV חיובי במהלך ההריון:



סיכום ומסקנות:

- מסתמנת עליה באחוז הנשים הסרונוגטיביות ל CMV בגיל הפוריות: 26% לעומת 15% ב-1993⁽¹⁾.
- במקרים של CMV חיובי ו CMV IgG Avidity High בתחילת הריון, נמצאה עדות להדבקה עובר רק ב 1% (2/173). יש לציין שב-2 המקרים ההדבקה האימהית התרחשה סמוך להריון (כ-4-5 חודשים לפני ההריון). נתונים אלה תומכים בהמלצת הרופאים להמתנה להריון של כשנה לאחר הדבקה ב CMV.
- במקרים של הדבקה ראשונית במהלך ההריון, בדיקת מי השפיר משמשת כלי יחיד לאימות הדבקה עוברית ב CMV.
- במדגם שלנו נמצא ששיעור הדבקה העוברי בזיהום ראשוני של האם הינו כ 18% (14/78).
- אחוז נמוך של נשים שנבדקו במהלך ההריון מגיעות לביצוע מי שפיר- כ-14.5% (78/536). יש להניח שרובן מפסיקות את ההריון בשלב מוקדם יותר.
- למרות אמינות בדיקת CMV במי שפיר, המגבלה של מועד ביצוע הבדיקה מרתיע את רוב הנשים שנבדקו בזיהום ראשוני מלהמתין לביצוע הבדיקה עד לשבוע 21 לפחות.

Reference:

1. Stein O. et al. Prevalence of antibodies to cytomegalovirus in a parturient population in Israel. Isr J Med Sci 1997; 33: 53-8.

Clostridium difficile toxin 17 התהליך המעבדתי להעלאת הרגישות

מרים פריזדה, דיאנה טרן וברכה שיינברג

מעבדה מרכזית, מכבי שירותי בריאות, רח' המדע 9, פארק ת.מ.ר. רחובות 76302

רקע: בדיקות *Clostridium difficile toxin* (CD-toxin) מיועדת לברור הימצאות טוקסין החיידק בדגימות צואה שלשוליות, במיוחד עבור נבדקים שעברו טיפול אנטיביוטי מאסיבי או בנבדקים מדוכאי מערכת חיסון. בשנים האחרונות נוספו ערכות דיאגנוסטיות חדשות לשימוש המעבדות, כגון בדיקת האנטיגן GDH (Glutamate Dehydrogenase) (CD-GDH) לצורך שיפור רגישות השיטה ובדיקה מולקולארית Clostridium toxin-PCR לצורך שיפור ספציפיות הבדיקה. תהליכי עבודה מומלצים, המשלבים שימוש במספר ערכות דיאגנוסטיות, פורסמו ע"י ארגונים בינלאומיים ומשרד הבריאות הישראלי. במעבדתנו, החלפנו את תהליך העבודה לגילוי CD-toxin משימוש בבדיקה אחת (CD-toxin), לתהליך המשלב את שלוש הבדיקות CD-Toxin, CD-PCR ו-CD-GDH, לצורך העלאת רגישות השיטה.

מטרה: בחינת יעילות הכנסת שלוש הבדיקות CD-Toxin, CD-GDH ו-CD-PCR לתהליך העבודה, לצורך שיפור יכולת הגילוי של *Clostridium difficile toxin* בדגימות צואה.

שיטות: במהלך שנת 2011 בדקנו את דגימות צואה שלשוליות ל-CD-Toxin ע"י שימוש בערכה מסחרית ImmunoCard (Meridian) Toxins A & B. במהלך 2012 הוספנו לתהליך העבודה (כמתואר בהמשך) בדיקות CD-GDH ע"י שימוש בערכה מסחרית ImmunoCard C. difficile (Meridian) ושימוש במכשיר ה-Illumigene לביצוע בדיקות CD-PCR (Meridian). כל הבדיקות בוצעו על-פי הוראות היצרן בערכות בעלות אישור FDA. בתום שנתיים עבודה, הושגו מספר התוצאות החיוביות שהתקבלו על-פי כל תהליך עבודה.

תוצאות: תהליך העבודה שבוצע בשנת 2011 כלל בדיקת CD-Toxin בלבד. התקבלו במהלך חצי שנה 882 דגימות, מתוכם נפסלו לעבודה 376 דגימות (339 לא שלשוליות ו-37 נפסלו מסיבות טכניות אחרות). ל-59 דגימות (11.6%) התקבלה תוצאה חיובית לנוכחות הטוקסין. במהלך חצי שנת 2012 הגיעו למעבדה 995 דגימות צואה, מתוכם נפסלו לעבודה 483 דגימות (437 לא שלשוליות ו-46 נפסלו מסיבות טכניות אחרות). תהליך העבודה כלל ביצוע בדיקת CD-GDH תחילה, לוודא הימצאות החיידק. נבדקו 512 דגימות ול-120 התקבלה תוצאת CD-GDH חיובית (23%). דגימות אלו הועברו לביצוע בדיקת CD-Toxin, לברור הימצאות הטוקסין. 35 דגימות נתנו תוצאה חיובית ו-85 דגימות תוצאה שלילית. 85 הדגימות הללו הועברו לביצוע בדיקת CD-PCR, מתוכם 52 נתנו תוצאות חיוביות. תוצאות חיוביות סופיות נקבעו עבור קבוצת הדגימות להן תוצאות CD-GDH ו-CD-Toxin חיוביות (35 דגימות), ולקבוצת הדגימות להן תוצאות CD-GDH ו-CD-PCR חיוביות (52 דגימות). לאחר יישום תהליך העבודה החדש בשנת 2012, נמצאו 87 דגימות חיוביות במהלך חצי שנה, שהם מהווים 17% מסה"כ הדגימות שנבדקו.

סיכום ומסקנות: תהליך העבודה המורחב כלל ביצוע בדיקת אנטיגן של חיידק ה-*Clostridium difficile* (CD-GDH) כבדיקה מקדימה, לפני ביצוע בדיקת הטוקסין. בנוסף, הבדיקה המולקולרית CD-PCR בוצעה עבור אותן דגימות להן נמצאה חוסר התאמה בין תוצאות בדיקת האנטיגן לתוצאות בדיקת הטוקסין. לאחר סיכום התוצאות שהתקבלו על-פי כל הליך עבודה, נמצא כי התוספת של שתי הבדיקות הללו העלתה את אחוז החיוביים ב-46%. הרחבת תהליך העבודה אמנם מייקרת את ביצוע הבדיקות בגלל העלויות וזמן עבודה המושקע בתהליך, אך חשובה ביותר לשיפור האבחון המעבדתי.

18. MASS SPECTROMETRIC ANALYSIS OF URINARY STEROIDS ALLOWS FOR THE DIAGNOSES OF ESSENTIAL HYPERTENSION, RESISTANT TO CLASSICAL TREATMENT

Dumin Elena¹, Knopf Carlos¹, Asadi Suer², Shlafer Rima², Chernikov Marina², Torgeman Karen³

(1) Laboratory of Clinical Biochemistry, Rambam health Care Campus, Haifa. (2) Department of Nephrology, Rambam health Care Campus, Haifa. (3) Department of Endocrinology, Tel Aviv Sourasky Medical Center.

Hypertension is an ubiquitous health problem with a worldwide prevalence of 25% in the adult population. A significant proportion of hypertensive patients are resistant to conventional therapy, and identification of the underlying cause of hypertension is of major importance in order to adapt proper new drug therapy to these patients.

The principal aim of our study was to study the possible role of the 11 β -hydroxy-dehydrogenase (11 β -HSD) in the pathogenesis of essential hypertension, especially the type 2 deficiency of this enzyme, leading to a mild form of syndrome of apparent mineralocorticoid excess (AME). The syndrome is attributable to congenital deficiency of the enzyme 11 β -HSD, which converts cortisol (F) to biologically inactive cortisone (E). It is a heritable form of hypertension characterized by hypokalemia and low renin levels despite subnormal or normal levels of aldosterone. Cortisol binds avidly to the mineralocorticoid receptor (MR) in the kidneys, and without the normal conversion to cortisone, even regular levels of cortisol induce a mineralocorticoid excess state with hypertension condition. Gas chromatography-Mass spectrometry (GS-MS) analysis was used to detect urinary steroid metabolites, in samples from three patients characterized with hypertension resistant to treatment. The standard biochemical marker of the type 1 disorder is an increased ratio of tetrahydrocortisol (THF) + allo-THF/tetrahydrocortisone (THE) in the urine, and it was only slightly increased in all three cases studied. Moreover, we calculated two additional ratios for THF+alloTHF/F and for allo-THF+THE/F, and they were slightly decreased and indicative of AME type 2. However, sequencing of the entire coding region of the 11 β -HSD gene in one of our patient failed to reveal any mutation. On the other hand, Spironolactone therapy, usually useful in AME type 2, succeeded in controlling both the hypertension and the hypokalemia in this case.

These results raise the possibility that a previously unidentified factor, maybe one that regulates the function of the HSD11B2 or that of the MR gene itself, might be the reason for these cases of hypertension. Analysis of specific urinary steroid metabolites can allow for the identification of candidate patients for apparent mineralocorticoid excess (AME) type 2. Furthermore, we are planning further analyses, specifically the whole genome sequencing of these patients in order to help us identify the specific gene responsible for the decreased activity of 11 β -HSD.

19. זיהוי קרדית דמודקס במעבדות בקהילה

אורית טרייגרמן, ריטל אזולאי וג'ורג' פרחגרוד
קופת חולים מאוחדת - המעבדה המרכזית – לוד

דמודקס הוא טפיל עור מיקרוסקופי המצוי בעומק הרקמה העורית, בתוך זקיק השיער או בבלוטת השומן. טפיל זה גורם ל-דמודיקוזיס שהיא מחלת עור דלקתית, המאופיינת בריבוי הימצאות הטפיל דמודקס בעור. דמודקס בוגר מגיע לגודל של 0.3-0.4 מילימטר ומורכב משני חלקים, 8 רגליים מחוברים לאיזור האחורי (זנב מחוספס) וגוף מכוסה בקשקשים על מנת להתחבר לזקיק השיער. בנוסף יש לטפיל קוצים דמויי פה לצורך אכילת תאי עור, הורמונים ושומנים אשר מצטברים בזקיקי השיער.

כיום ידועים 65 מינים שונים של דמודקס, ישנם שני מינים הגורמים לתופעות קליניות בבני אדם-
DEMODOX BREVIS ו- DEMODOX FOLLICULORUM.

בעבודה זו מוצגת חשיבות זיהוי הטפיל - DEMODOX spp במסגרת הקהילה. דמודקס גורם לתופעות קליניות שונות בעור באזורים הסמוכים לפנים: צוואר, גבות, סנטר, מצח, עיניים, ריסים, אף, תוך הופעת אדמומיות, קשקשים, פצעונים קטנים דמויי אקנה ונימיות דם מורחבות. מתבטא בתחושת גירוי מתמדת והיא שכיחה יותר בנשים.

דיגום נכון, תוך הקפדה על הכנת המבוטח מהווה מפתח להצלחת הזיהוי של הטפיל. הזיהוי המעבדתי מתבצע ע"י מיקרוסקופיה ישירה, תוך זיהוי אלמנטים אנטומיים של דמודקס.

החשיבות המרכזית בזיהוי נכון בקהילה הוא כאבחנה מבדלת קלינית להופעת האקנה ובצורה זו בחירת הטיפול הנכון מחד ומניעת טיפול מיותר באקנה מאידך.

20. השוואה בין הקיט לבדיקת נוגדנים ל Anti CCP2 -Cyclic citrullinated peptide על מכשיר הביופלקס 2200 לבין הקיט Anti CCP3 (INOVA) בשיטת ELISA

לימור שגב שרון, רויטל אזולאי וג'ורג' פרחגורד
קופת חולים מאוחדת – מעבדה מרכזית - לוד

דלקת מפרקים שיגרונית Rheumatoid arthritis (RA) היא מחלה כרונית אוטואימונית הפוגעת במפרקים וגורמת להרסם ההדרגתי. דלקת מפרקים שיגרונית היא מחלה רב מערכתית הפוגעת ברקמות נוספות לאלו שבמפרקים. החולים סובלים מתסמינים שונים שבהופעתם ניתן למצוא שונות רבה אשר מקשה על האיבחון.

בדיקת זיהוי נוגדן עצמי Anti CCP הינה בעלת חשיבות מרכזית בזיהוי דלקת מפרקים שיגרונית. להופעת הנוגדן חשיבות אבחנתית והופעתו עשויה להקדים את ההסתמנות הראשונה של דלקת המפרקים בשנים אחדות. תבחין Anti CCP חיובי מנבא מהלך מחלה קשה יותר המלווה בהרס מפרקים ומלמדת על הצורך בהתערבות תרופתית יותר אינטנסיבית.

מטרת התיקוף להשוות בין הקיט לבדיקת Anti CCP2 על גבי מכשיר ה-Bioplex 2200 פלטפורמה אוטומטית המאפשרת עבודה בצורת Random access בטכנולוגיית Multiplex Detection Magnetic Bead טכנולוגיה המאפשרת לבצע ולדווח מספר מרובה של בדיקות המתבצעות בו זמנית במבחנת ראקציה אחת. לעומת הקיט Anti CCP3 (INOVA) בשיטת ELISA בצורת Batch.

בתיקוף נבחנו 66 דגימות מתוכם 19 דגימות חיוביות עם קליניקה ידועה לדלקת מפרקים שיגרונית. נמצאה 100% התאמה (19/19) בין הדגימות החיוביות לנוגדן Anti CCP בשתי השיטות. כמו כן 47 דגימות נמצאו שליליות לנוגדן Anti CCP בשתי השיטות. תוצאות אלו מצביעות כי ביצועי הקיט לבדיקת Anti CCP2 על גבי מכשיר ה-Bioplex 2200 הראו יעילות, אפקטיביות, הדירות והתאמה לאבחנה הקלינית.

21. TORCH ON THE LIAISON® XL – PERFORMANCE OF THE NEW ANALYZER

Orit Rozenberg, Rasha Daniel, Eliza Awess, Assaf Engelstein, Clara Henig, Mira Barak.

Haifa and Western Galilee Laboratory, Clalit Health Services

BACKGROUND: The aim of the present study was to evaluate the performance of the DiaSorin TORCH assays on the LIAISON® XL, DiaSorin's next generation CLIA analyzer, in comparison to the performance of these kits on the LIAISON® analyzer in an outpatient setting laboratory.

METHODS: CMV IgM, CMV IgG, Toxoplasma gondii IgM, Toxoplasma gondii IgG, Rubella IgM, Rubella IgG, and HSV-2 IgG were tested simultaneously on both analyzers. The concordance between the analyzers by interpretation of the results was calculated. The quantitative assays results were correlated as well. Discrepant results were further tested by a third method and compared to clinical relevant data. Repeatability and reproducibility were tested with the kit controls as well as sera samples.

RESULTS: Interpretation concordances of 92%, 99%, 98%, 100%, 98%, 100%, 99% were found between the analyzers for the CMV IgM, CMV IgG, Toxoplasma gondii IgM, Toxoplasma gondii IgG, Rubella IgM, Rubella IgG, and HSV-2 IgG assays, respectively. Correlations of 0.994 and 0.956 were obtained between the results of the two analyzers for CMV IgG and Toxoplasma gondii IgG, respectively. The single test that the concordance between analyzers was less than 98% was the CMV IgM. When testing this results against both Enzyme Immuno Florescent Assay (ELFA, Vidas) and against relevant clinical data, the LIAISON® XL results were found more suitable. Repeatability ranged from 1.3% to 4.0% for the IgM various assays and from 1.2% to 3.6% for the IgG various assays. Reproducibility ranged from 2.7% to 9.4% for the IgM various assays and from 2.9% to 7.7% for the IgG various assays.

CONCLUSIONS: The performance of the LIAISON® XL for the TORCH assays was highly comparable to the performance of the LIAISON® analyzer. The LIAISON® XL offers secure traceability of all processes, status of reagents and consumables as well as all the useful information for work monitoring and achieving higher effectiveness and safety quality.

22. CONFIRMATION OF BIOPLEX ANTI-DSDNA ASSAY BY THE LIAISON PLATFORM

Orit Rozenberg, Maya Grinberg, Maya Kishinewsky, Dina Reginashvili, Clara Henig, Mira Barak.
Haifa and Western Galilee Laboratory, Clalit Health Services

BACKGROUND: Switching platforms for ANA testing from Elisa assays to the Bioplex platform rendered a significant increase in the anti dsDNA results. The aim of the present study was to find the concordance between the Bioplex anti-dsDNA assay and other assays. The discrepant results were confirmed by the Crithidia assay and reviewed with the aid of HEp-2 ANA IFA and Bioplex ANA subsets results.

METHODS: 92 samples with Bioplex positive or borderline anti-dsDNA results were tested for anti-dsDNA with two ELISA assays (Euro Diagnostica AB, Malmo, Sweden and Euroimmun AG, Lubeck, Germany) and by the Liaison (DiaSorin S.p.A, Saluggia, Italy) CLIA assay. Discrepant results were tested by the Crithidia luciliae IFA (Kallestad, BioRad Laboratories). HEp-2 ANA IFA results and Bioplex ANA subsets results were available as performed routinely.

RESULTS: The monthly average of positive and borderline anti- dsDNA results was 12% and 22% as compared to 11% positive results with the previous Elisa assay (Euro diagnostica). 77 samples out of 92 samples (83.7%) with positive or borderline anti-dsDNA results by Bioplex were negative for anti-dsDNA with the two ELISA and the Liaison assays. One sample was positive with all the assays. In comparison to C. luciliae IFA, the Bioplex, Euro Diagnostica ,Euroimmun and Liaison assays had 13,7, 2 and 7 false positive results and 0,1,2 and 1 false negative results. Moreover, 60% of the Bioplex positive and 76% of borderline results were associated with negative both HEp-2 ANA IFA and other ANA subsets. Only 11% of the Bioplex positive and 2% of the borderline results were associated with positive HEp-2 ANA IFA results and negative results for all the other ANA subsets. 7% of the Bioplex positive and 2% of borderline results were associated with negative HEp-2 ANA IFA results but positive results to one of the other ANA subsets.

CONCLUSIONS: The high rates of positive and in special borderline results rendered by the Bioplex anti-dsDNA were poorly confirmed by other tests or platforms and should be further investigated. The Liaison anti-dsDNA assay offers a convenient random access platform for confirming the borderline Bioplex anti-dsDNA results.

23. Newly launched HIV 4th generation and HTLV Antibody tests performance on the LIAISON XL

Kra-Oz Z., Rozentel D., Musicant T., Rimon N., Shemer Avni Y.

Rambam Health Care Campus, Haifa, and Soroka University Medical Centre, Beersheba, Israel.

Objective: The fourth generation HIV Ab / Ag assays detect both: antibodies (Ab) and HIV p24 antigen (Ag), thereby decreasing the seroconversion window and improving early detection of HIV infection. The advantage of the HIV Ab / Ag Liaison XL test is its high through put and the use of two different reagent integrals, one for anti-HIV detection, and one for p24 antigen detection. Blood donation screen requires testing for antibodies to HTLV, as well. The aim of this study was to evaluate the HIV and the HTLV tests performance on the Liaison XL.

Methods: The HTLV and HIV Ab / Ag Liaison XL assays were compared to the Abbott Architect HTLV and HIV 1&2 COMBO assays. Discrepant samples were rechecked and confirmed by VIDAS HIV-DUO Ultra test for HIV antibodies or/and p24. The samples tested were as follows: 193 confirmed positive sample, 109 negative samples, 76 samples false positive (FP) by Abbott COMBO (low positive), 368 routine samples, and 2 seroconversion panels. For HTLV 196 negative samples, 9 confirmed positive samples and 1 seroconversion panel were tested.

Results: The XL HIV test was sensitive, and identified HIV infection in seroconversion panel prior to other high throughput methods. When samples were either negative or positive for HIV there was an absolute concordance between the results obtained by the Liaison XL HIV Ab / Ag and the Abbott COMBO. Sixty-five samples out of 76 that were low positive by Abbott COMBO and negative by Vidas-DUO (FP samples), were negative by XL HIV Ab / Ag. Out of the 368 routine samples 366 were found negative by both assays. Two samples were low positive by Abbott COMBO but negative by VIDAS and the Liaison XL HIV Ab / Ag assay. In the HTLV screen there was a good concordance with the Architect assay. However, one sample detected as positive by the LIASON XL was not confirmed by Abbott (1.1 vs. 0.9) or by Western blot.

Conclusions: The Liaison XL HIV Ab / Ag assay was sensitive and specific and gave less HIV false positive results than the COMBO test. The HTLV assay performances of both instruments were equivalent.

24. EVALUATION OF THE DIASORIN LIAISON AUTOMATIC STOOL ANTIGEN TEST FOR THE DIAGNOSIS OF HELICOBACTER PYLORI INFECTION.

Shifra Ken-Dror and Mira Barak,

Central Laboratories Haifa & Western Galilee, Clalit health services, hataasia st. 47, neshar 20300.

Background: Helicobacter pylori bacterium is well recognized as a major cause of gastrointestinal diseases, such as chronic gastritis, duodenal and gastric ulcers and is also associated with an increased risk of gastric cancer. Several methods are used to diagnose H. pylori infection including the invasive method of gastric biopsy and noninvasive methods such urea breath test, serological blood test "(only for seroprevalence studies) and stool antigen test. The H. pylori stool antigen test provides a simple alternative to the urea breath test and is appropriate for diagnosis and follow-up of the infection.

Methods: The LIAISON H. pylori assay (DiaSorin Inc., USA) is a new automatic modified two-step, two-site sandwich assay, which uses monoclonal antibodies for detection of H. pylori stool antigen. In this study stool specimens from outpatients children and adults of both genders, with gastrointestinal complains, were collected from clinics in the north of Israel during the period from August to November 2012, and were examined for the existence of H. pylori stool antigen by the LIAISON assay. The results were compared with the Amplified IDEIA Hp StAR assay (Oxoid Ltd., UK) , a monoclonal known ELISA test for the detection of H. pylori stool antigen. The discrepant samples were confirmed by molecular methods and clinical diagnosis.

Results: Whereas the LIAISON method revealed 43 % of positive stool specimens for H. pylori antigen , the Amplified IDEIA Hp StAR assay rendered only 41% of the samples as positive. If the Amplified IDEIA Hp StAR assay was considered as a gold standard, the sensitivity and specificity of the LIAISON test was 97.4% and 94.5%, respectively. The PPV and NPV values of this test were 92.7% and 98.1%, respectively.

Conclusions: Thus we conclude that the new automatic LIAISON test is an accurate test for the detection of H. pylori antigen in stool samples. The LIAISON platform advantages ,the random access and speed of proceeding enabled us the successful implementation of H.pylori stool test on an automated analyzer.

25. Evaluation of the serum free light chain (FLC) Freelite™ assay on the new SPAplus immunoturbidimetry analyzer

C. Henig, T. Adler, S. Ammouri, M. Barak
Haifa and Western Galilee Laboratory, Clalit Health Services

Background: Serum free light chain (FLC) assay has become a routine test available on a variety of chemistry analyzers. The International Myeloma Working Group (IMWG) has recommended to use this assay for monitoring oligosecretory myeloma and AL amyloidosis patients. Recent publications have shown several application limitations which may stem from the polyclonal nature of the assay antibodies. The assay lack of standardization may explain the non satisfactory harmonization between methods and should emphasis the importance of monitoring the patients by the same method.

Methods: We evaluated the performance of the serum FLC assay on the SPAplus immunoturbidimetry analyzer and compared the results to a Beckman-Coulter AU analyzer used in our lab.

Results: We analyzed 62 sera from out patient clinics and 3 external quality control materials. Regression analysis revealed good correlation between the two assays (kappa: $y=0.91x-0.4$, $r=0.94$, range: 3.6-112.9 mg/L, lambda: $y=1.06x-1.5$, $r=0.98$, range: 5.8-137.5 mg/L). Reproducibility varied from 1.6% to 4% and repeatability was less than 2.5% for both kappa and lambda fractions. Extremely high levels of free light chains could be correctly measured due to the SPAplus antigen excess detection ability. Serial dilutions showed mean recovery of 95% and 103% for the polyclonal and monoclonal kappa FLC. On the other hand, for the lambda FLC, increasing recovery was determined with increasing dilutions.

Conclusion: Laboratory staff should be aware of the lambda FLC non linearity although its clinical relevance for patient monitoring is not clear. Nevertheless, the SPAplus immunoturbidimetry analyzer is as an acceptable platform for the serum free light chain (FLC) Freelite™ assays.

26. HYPEREMESIS GRAVIDARUM AND HELICOBACTER PYLORI INFECTION AMONG ARAB WOMEN IN ISRAEL

Sami Abu Elheiga (1), Asher Sharony (1), Tsachi Tsadok Perets (2), Yaron Niv (3), Hussein Shamly (1).

1. ST. Vincent French Hospital, Nazareth and Rappaport Faculty of Medicine, Technion Israel Institute of Technology, Haifa
2. Gastroenterology Laboratory, Rabin Medical Center - Beilinson Hospital, Petah Tikva, Israel.
3. Division of Gastroenterology Rabin Medical Center - Beilinson Hospital, Petah Tikva and Sackler Faculty of Medicine, Tel Aviv University, Israel.

Background:

Hyperemesis gravidarum (HG) is defined variably as vomiting sufficiently severe to produce weight loss, dehydration and acidosis from starvation. The etiology of HG is unclear and it has been suggested that infection with *Helicobacter pylori* (HP) may be a result of HG rather than a cause.

Aim:

The aim of the present study was to investigate the relationship between the presence of HP and HG during early pregnancy by using C13 Urea breath test (UBT) as a marker for HP infection.

Methods:

The study was comprised of two groups of HG cases and a control group. The first group was consisted of 23 women with current HG and current UBT (GRP1). A second group was consisted of 22 women with HG in previous pregnancy and no UBT test and HG in current pregnancy with UBT (GRP2). The control group was consisted of 23 asymptomatic pregnant women underwent UBT.

Results:

HP was found in 17 of 23 (73.9%) and 12 of 22 (54.5%) cases of the GRP1 and GRP2 groups respectively and in 15 of 23 (65.2%) control subjects.

The difference between GRP1 and GRP2 and the control was insignificant using chi squared test (GRP1; $p=0.946$, GRP2; $p=0.938$).

Conclusion:

Our findings do not support any direct correlation between HP infection and HG among Arab women in Israel. This is regardless of whether HP exposure was measured in current or previous pregnancy. These results may indicate that the association between HP and HG is poor than reported by others, particularly in populations with high prevalence of HP infection.

27. A new algorithm for rapid diagnosis of Staphylococcus aureus directly from positive blood culture bottles by BinaxNOW® S. aureus test combined with the GeneXpert

MRSA/SA Blood Culture Assay

O. SCHWARTZ HARARI¹, M. Dan², A. Kutchnsky¹, T. Gottesman², O. Yossepowitch², (HOLON, IL)

¹Microbiology Laboratory, ²Infectious Disease Unit,
Edith Wolfson Medical Center Holon Israel

Objectives: Prompt identification of Gram-positive cocci in clusters (GPCC) seen on smear obtained directly from positive blood cultures (coagulase-negative staphylococci or Staphylococcus aureus) and determination of susceptibility to oxacillin, are of prime importance in reducing the high morbidity and mortality of S. aureus bacteremia which is closely related to the time to correct treatment initiation. While traditional microbiologic methods take 24-48 hrs to obtain the necessary information, rapid techniques have significantly shortened the process, although at higher cost. We studied a new algorithm aimed at the detection of Staphylococcus aureus directly from positive blood cultures and determination of its susceptibility to oxacillin. Our goal was to reduce the cost of the procedure, while maintaining accuracy and a short turnaround time.

Methods: From January to July 2012, all blood cultures positive for GPCC on direct smear were tested by BinaxNOW® Staphylococcus aureus Test (Alere Inc., Scarborough, Maine). Samples that tested positive were further assessed by the GeneXpert MRSA/SA BC Assay (Cepheid, Sunnyvale, CA).

Results: A total of 581 blood cultures that contained GPCC were tested. Traditional microbiology methods have identified 505 samples as non-S.aureus and 76 samples as S. aureus (51 MSSA, and 25 MRSA). Agreement between the microbiology method and the BinaxNOW® Test was found in all but 8 samples: 6 S. aureus isolates (7.9% of all S. aureus isolates) were misidentified as non-S. aureus, while 2 non-S. aureus isolates (0.4% of all non-S.aureus) were misidentified as S. aureus by the BinaxNOW®. Sensitivity and specificity were of 92% and 99%, respectively compared to traditional blood cultures. The GeneXpert MRSA/SA BC Assay showed complete concordance with standard phenotypic identification and antimicrobial susceptibility methods. The time to identification and susceptibility was 24 hrs by the traditional microbiologic methods, and approx. 2.5 hrs with the rapid techniques. The combined use of the 2 rapid techniques reduced the cost by 70% compared with the GeneXpert MRSA/SA BC Assay if used alone on all blood bottles.

Conclusions: The algorithm, based on the combined use of 2 rapid techniques, provides a reduced turnaround time test as compared to conventional methods, while maintaining an excellent specificity and very good sensitivity, at a significantly lower cost compared to the GeneXpert MRSA/SA BC Assay alone.

