

# Zpráva flowcytometrické pracovní skupiny a interpretace flowcytometrických vyšetření

**Kolektiv autorů ze spolupracujících  
flowcytometrických laboratoří**

# Posun od roku 2013

- **Přístrojové vybavení**
  - téměř všechna studiová pracoviště již disponují vícelaserovými přístroji
  - snaha o zavádění standardizovaných Euroflow protokolů (renesance)
  - na vybraných pracovištích též disponují analytickým SW Infinicyt, umožňujícím pokročilé analýzy získaných dat

# Kontroly kvality I.

## Studie SEKK - 10/2013

- účast 19 laboratoří (4 ze SR)
- stanovení % PC, normality a klonality PC
- výsledky získané pro některé parametry (zejména N-PC a n-PC) neumožnily stanovení konsenzuální vztažné hodnoty a tedy ani standardní hodnocení obvyklé v programech EHK

# IMF Euroflow Workshop

Zacílen na problematiku stanovení MRD pomocí standardizované FC

- zvýšení senzitivity FC prostřednictvím analýzy až  $5 \times 10^6$  buněk
- zefektivnění analýz prostřednictvím změny fluorochromů a protilátek
- **kritérium** čerstvosti vzorku (< 24h od odběru)
- automatizace hodnocení

# Standardizace FC v ČR

**A) Analyzuje každá laboratoř s dostupným 8-barevným flowcytometrem**

**B) analýza všech MG pacientů od stanovení dg. v jediné centrální laboratoři**

- **nutné využití jednotného protokolu (Euroflow?)**
- **možnost výroby analytického kitu firmou EXBIO**
- **interlaboratorní kontrola FN Brno vs. FN HK**

# Interpretace vyšetření I.

## Stanovení (ab)normality dle CD19 a CD56

- **N-PC** - normální PC (nejčastěji CD19<sup>+</sup>CD56<sup>-</sup>)
- **A-PC** - abnormální PC (nejčastěji CD19<sup>-</sup>CD56<sup>+</sup>, u cca 20%  
CD19<sup>-</sup>CD56<sup>-</sup>, avšak zřídka CD19<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup> či CD19<sup>+</sup>CD56<sup>-</sup>)

**U nejasného vzorku však počet N-PC a A-PC neodpovídá skutečnosti - možná ztráta CD19 a naopak exprese CD56 normálními PC, bez nálezu klonálních PC!  
Možnost prolínání normální a abnormální populace!**

# Interpretace vyšetření II.

## Stanovení (poly)klonality pomocí cyt $\kappa/\lambda$

- prověření klonality jednotlivých subpopulací, dle CD19 a CD56, u nejasných výsledků s ohledem na expresi dalších markerů
  - n-PC - polyklonální PC (nejčastěji CD19<sup>+</sup>CD56<sup>-</sup>  
Ize i CD19<sup>-</sup>CD56<sup>-</sup> či CD19<sup>-</sup>CD56<sup>+</sup>)
  - α-PC - klonální PC (nejčastěji CD19<sup>-</sup>CD56<sup>+</sup> příp. CD19<sup>-</sup>CD56<sup>-</sup>  
Ize i CD19<sup>+</sup>CD56<sup>-</sup> či CD19<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>)

**Vyžaduje opakovanou manipulaci se vzorkem (centrifugace) a tedy ztrátu buněk, možná nepřesnost!**

# Interpretace vyšetření III.

- přítomnost PC s abnormálním fenotypem stran CD19 a CD56 nemusí nutně znamenat přítomnost klonální populace
- identifikace klonální populace PC pouze na základě povrchového fenotypu povede u části pacientů k zisku nesprávných výsledků
- fenotypizace za účelem identifikace klonální populace musí tedy zahrnovat kombinaci povrchového a cytoplazmatického barvení



# FC vyšetření osob s MG

**Stále diskutována forma výstupů z jednotlivých laboratoří pro účely zápisu do RMG**

- **část laboratoří již vydává výsledky ve standardní podobě umožňující zápis do RMG**
- **u části laboratoří nutná identifikace stávajících parametrů (N-PC/A-PC) a teprve poté zavedení nových parametrů (n-PC/a-PC)**

# Sjednocení výstupů pro RMG

- **Nezbytná data - domluva s datamanažerkami na jednotné formě zápisu do RMG**
  - % PC flowcytometricky
  - N-PC (CD19<sup>+</sup>CD56<sup>-</sup> PC) - % ze všech PC
  - A-PC (CD19<sup>-</sup>CD56<sup>+</sup>/CD19<sup>-</sup>CD56<sup>-</sup>/CD19<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup> PC)
- **Volitelná data**
  - n-PC - polyklonální PC - % ze všech PC
  - a-PC - klonální PC - % ze všech PC
- **Doporučená data**
  - CD20<sup>+</sup> PC, CD27<sup>+</sup> PC, CD28<sup>+</sup> PC, CD81<sup>+</sup> PC, CD117<sup>+</sup> PC...

# Děkuji za pozornost