

Standardisering af flow-paneler

Hanne Vibeke Marquart

Titel: Overlæge, Ph.d. (speciallæge i Klinisk Immunologi)

Stilling: Overlæge, leder af området for Diagnostisk Immunologi

Beskæftigelsesområder: Leder af området for Diagnostiske Immunologi, Klinisk Immunologisk afdeling, Rigshospitalet, der bl.a. varetager diagnostik og monitorering af børn og voksne med immundefekt og leukæmi

Introduktion

Vi ønskede at implementere en højt standardiseret 10-farver flowcytometri platform til immunologisk karakterisering af blodets leukocyt subpopulationer, herunder T-celler, B-celler, dendrit celler og myeloide celler. Vi ønskede at tilføje markører til detaljeret karakterisering af cellernes opmodningsmønster og aktiveringsstadie. Platformen skulle kunne anvendes til diagnostik og monitorering af børn og voksne med immundefekt, men også til detaljeret karakterisering af immunprofil hos patienter med svækket immunfunktion, sekundært til f.eks. infektion eller cancer.

Materialer og Metoder

Vi fik produceret et custom-designes multicolor lyophilized (fryse tørret) 10 farver markørpanel. Settingen på vores reference Navios instrument blev optimeret ved brug af CD4-enkeltindfarvede PBMCer, og PMT target værdier blev bestemt ved anvendelse af SPHERO™ Rainbow Calibration Particles (8 peaks). Target værdierne blev herefter overført til Navios 2 instrument. Instrumenternes stabilitet over tid er efterfølgende monitoreret ved hjælp af peak-3 og peak-6 af Rainbow Calibration Partikler (MFI- og SD-værdier).

Standardiserede dataanalyse, inkl. flowcytometri templates/skabeloner, elektronisk rå-dataeksport og beregning af celle koncentrationer, elektronisk svarsystem til rutine-analyser og elektronisk eksport af data til større projekter/opsørelser, samt R-script til dataevaluering af celledsubpopulationer og aktiveringsmarkør er etableret.

Resultater

Målte cellekoncentrationer og celledeling af subpopulationer blev sammenholdt med målinger på tidligere anvendte platforme, herunder bl.a. akkrediterede flow analyser til koncentrationsbestemmelse af TBNK. Flow-panelet blev valideret, ISO akkrediteret og implementeret i den kliniske diagnostik af immundefekt.

Flowpanelet er anvendt i flere kliniske studier, hvor vi har kunnet påvise karakteristisk immunprofil afhængig af sygdom og infektions type.

Diskussion og konklusion

Det er muligt at implementere en højt standardiseret 10-farver flowcytometri platform til immunologisk detaljeret karakterisering af blodets leukocyt-subpopulationer på to ens flow-instrumenter og fastholde opsætningen stabil over mange år. De mange udvalgte markører giver yderst relevant information om patienternes immunfunktion.