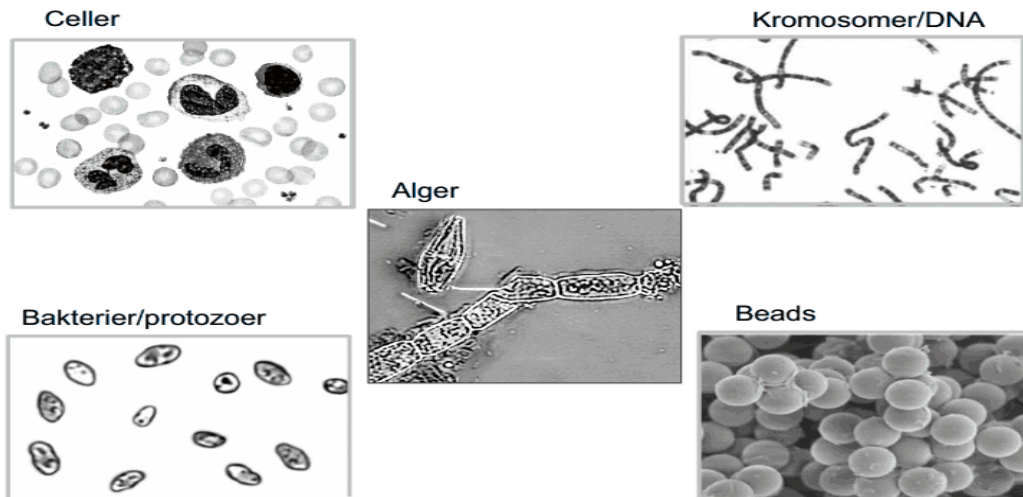


Akkreditering flowcytometri



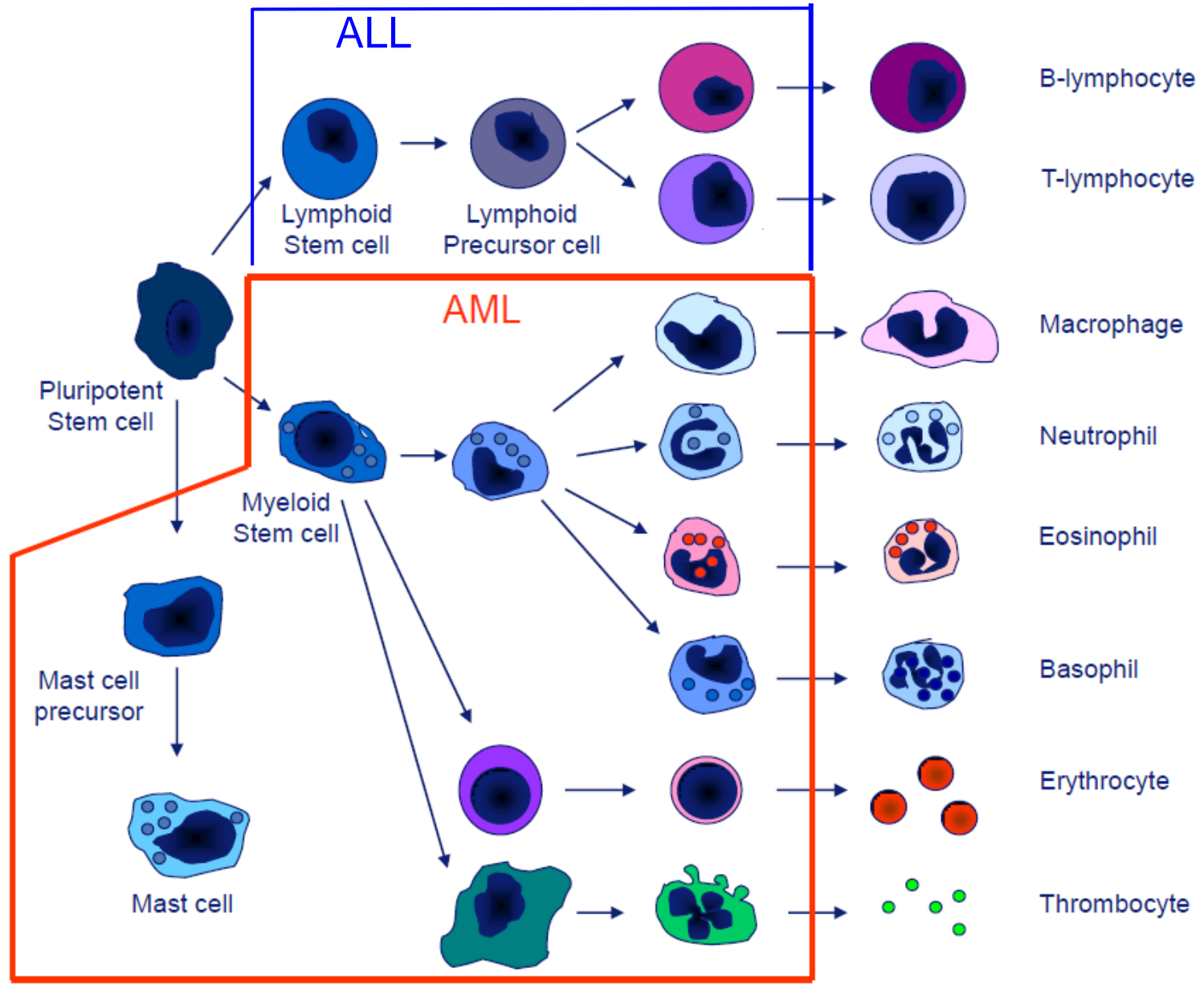
SFFF 2011

Gine Eggen
Fagansvarlig bioingeniør, Enhet for cytometri

20.05.16

Hematopoiesis Beinmarg

Perifert blod



Prøvemateriale

- **Blod**
- **Beinmarg**
- **Celler fra lymfeknute**
- **Spinalvæske**
- **Bronkialskylllevæske**
- **Annet biologisk materiale** (pleuravæske, ascites og lignende)

Analyserepertoar

- Utredning av hematopoietiske og lymfoproliferative sykdommer
- Behandlingseffekt- MRD kontroll
- Kvantifisering av stamceller ved HMAS behandling
- PNH-paroxysmal nocturnal hemoglobinuria
- Trombocyttsscreening og forlik
- Immunsvikt utredninger
- Kvalitetskontroll av blodprodukter
- Screening for HLA-B27
- HPA 1a typing av blodgivere
- EMA- arveditær sfærocytose test

Immunfenotyping

- **WHO 2008**
- **Konsensusprotokoller**
 - **NOPHO/NFCG (nordisk samarbeid)**
 - ✓ Felles 6-farge-panel for B-ALL og T-ALL til diagnostikk og MRD deteksjon
 - ✓ Fra 2008 har FCM-MRD-funn behandlingsmessig konsekvens
 - **EuroFlow**
 - ✓ Juni-09: Forslag til 8-farge-FCM-paneler for de aller fleste diagnoser ([www. EuroFlow.org](http://www.EuroFlow.org))
 - **EMN02** European Myeloma Network (2012) og **HOVON (NMSG21) 2015**
 - ✓ MRD myelom
 - **UK NEQAS**
 - ✓ Ekstern kvalitetssystem

Akkreditering - analyser

- HLA-B27
- Absolutt tall lymfocytter ved immunsvikt og Rituximab behandling
- HPA1a typing
- Leukocyttkontroll av blodprodukt
- Kvantifisere stamceller i blod og stamcelleprodukt ved HMAS
- **Lymfoproliferativ** utredning i blod og beinmarg
 - LST-Euroflow
 - 2 B-cellerør
 - 1 T-cellerør
- **Spinalvæske**
 - SST-Euroflow

8-FARGE LYMFOPROLIFERATIV

Etikett:	Dato:	Materiale:	
	Sign lege(r):	Prøve mottatt:	kl:
		Prøve analysert:	kl:
		WBC:	x10 ⁹ /L
		WBC/analyserør:	x10 ⁶ /rør
		Kommentar:	
		<input type="checkbox"/> Filene eksportert til X:\	
		Sign bioing:	

Antistoff kombinasjon

Dato	Rør	FITC	µl	PE	µl	PerCP-Cy5	µl	PE-Cy7	µl	APC	µl	APC-Cy7/H7	µl	Pacific Blue	µl	HRZ V500	µl	50.000 events
	1	CD8 og Lambda	2,5 5	CD56 og kappa	2,5 5	CD5	15	CD19 og TCRgd	2,5	CD3	2,5	CD38	2,5	CD20 og CD4	2,5	CD45	2,5	LST screening
	B-1	CD23	2,5	CD10	2,5	CD79b	2,5	CD19	2,5	CD200	5	CD43	2,5	CD20	2,5	CD45	2,5	CLL vs andre
	B-2			CD103	5	CD11c	2,5	CD19	2,5	CD22	2,5	CD81	2,5	FMC7	5	CD45	2,5	klassifisering
	B-3	IgD	5	CD25	10	CD27	10	CD19	2,5	IgM	5	CD38	2,5	CD20	2,5	CD45	2,5	Kl switch/memory
	B-4	Kappa		Lambda	2,5	CD5	15	CD19	2,5	CD10	2,5	CD38	2,5	CD20	2,5	CD45	2,5	Foll. Lymfom
	B-5	Kappa		Lambda	2,5	CD5	15	CD19	2,5	CD200	5	CD43	2,5	CD20	2,5	CD45	2,5	MCL(250 000 v MRD)
	T-1	CD8	2,5	CD7	5	CD3	5	CD2	2,5	CD5	2,5			CD4	2,5	CD45	2,5	T-c Panarifgen
	T-2		5	CD30	5	CD3	5	CD56	2,5	CD326	5			CD20	2,5	CD45	2,5	Anaplasisk
	P-1	CD38	5	CD28	10	CD27	10	CD19	5	CD117	5	CD81	5	CD45	5	CD138	5	plasmacelle
	P-2	CD38	5	CD56	10	β2 mikro	5	CD19	5	cy Kappa	5	cy Lambda	5	CD45	5	CD138	5	Pl. celle intrac
	NK1	CD57	5	CD26	10	CD3	5	CD56	2,5	CD7	2,5	CD19	5	CD4	2,5	CD45	2,5	abertant NK/Sezary
	NK2	cy Perforin	10	cy Granzyme	15	CD3	5	CD56	2,5	CD94	5	CD19	5	HLADR	2,5	CD45	2,5	abertant NK/cytotox
		CD57	5	CD56	5			CD19	2,5	CD117	5	CD81	5	CD20	2,5	CD45	2,5	Neuroblastom

LST: Benytt 25 µl av mix, tilsett PerCp-Cy5,5, PE-Cy7 og APC-Cy7/H7 i tillegg.

Tillaging av cocktailer, se Excel dokument "Føring for tillaging av cocktailer fortyninger mm"

B1 og B2 cocktail: Benytt 20 µl av mix, tilsett PE-CY7 og APC-Cy7/H7 i tillegg.

T1-cocktail: Benytt 15 µl av mix, tilsett PerCP-Cy5,5 og PE-Cy7 i tillegg.

Benytt intracellulær metode til antistoffer med rød skrift, Granzyme og Perforin boks mrk diverse mabs

Tilhører EQS-prosedyre 8482 "Immunfenotyping ved flow cytometri"

Dokumentasjon

- Opplæring
- Prosedyrer
- Validering
- Mottak av prøve, behandling, analysering, vurdering og utgivelse av svar
- Instrumentinnstillinger, kompensasjon, daglig kontroll og kalibratorer
- Reagenser, holdbarhet og mottakskontroll
- Kontroller, interne og eksterne
- Volumkontroll av pipetter
- Sporbarhet
- Sjekklistor
- Service og kontroll av utstyr, inklusive servicereporter
- Leverandører av reagenser

•Immunfenotypinger

Instrumenter

Likt uttrykk
Varmeutvikling

Manuelle teknikker

Feilpipettering

Vurderinger

Tett kommunikasjon med legegruppa mht
antistoffsammensetning og videre oppfølging

Konklusjon

Legene vurderer plot og kommer med konklusjon

Støy

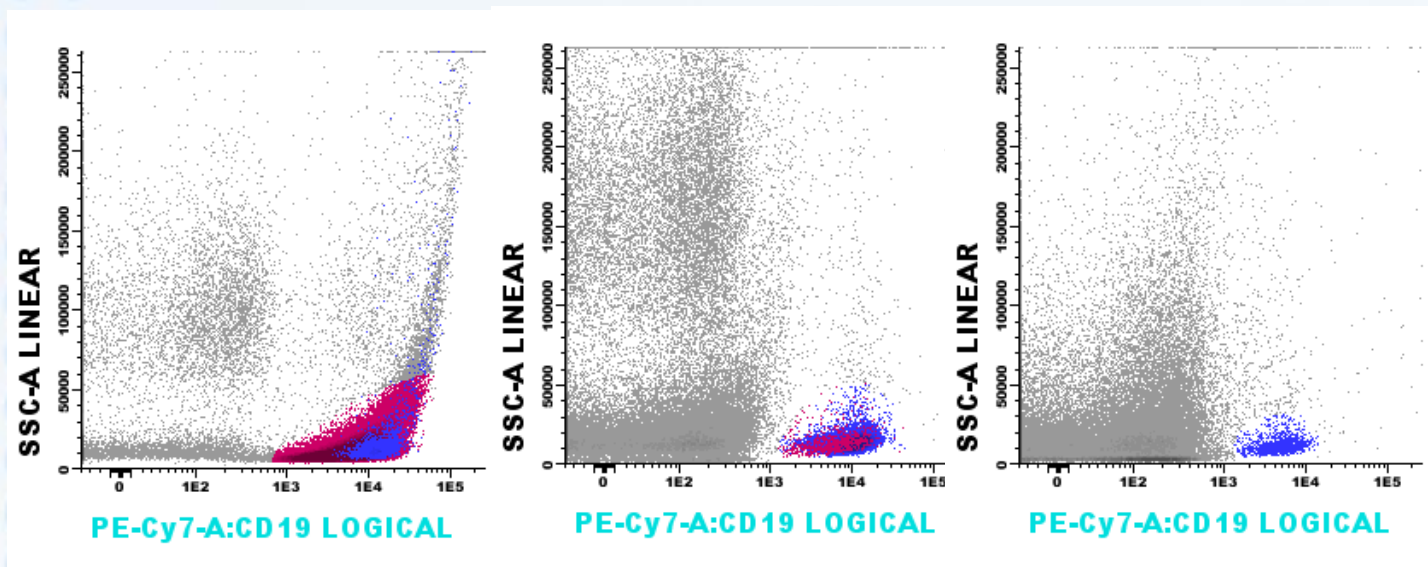
Instrumenter, medarbeidere, trangt om plass

Prøve

Uforutsigbar prøvemengde
Holdbarhet



Eksempel på MRD

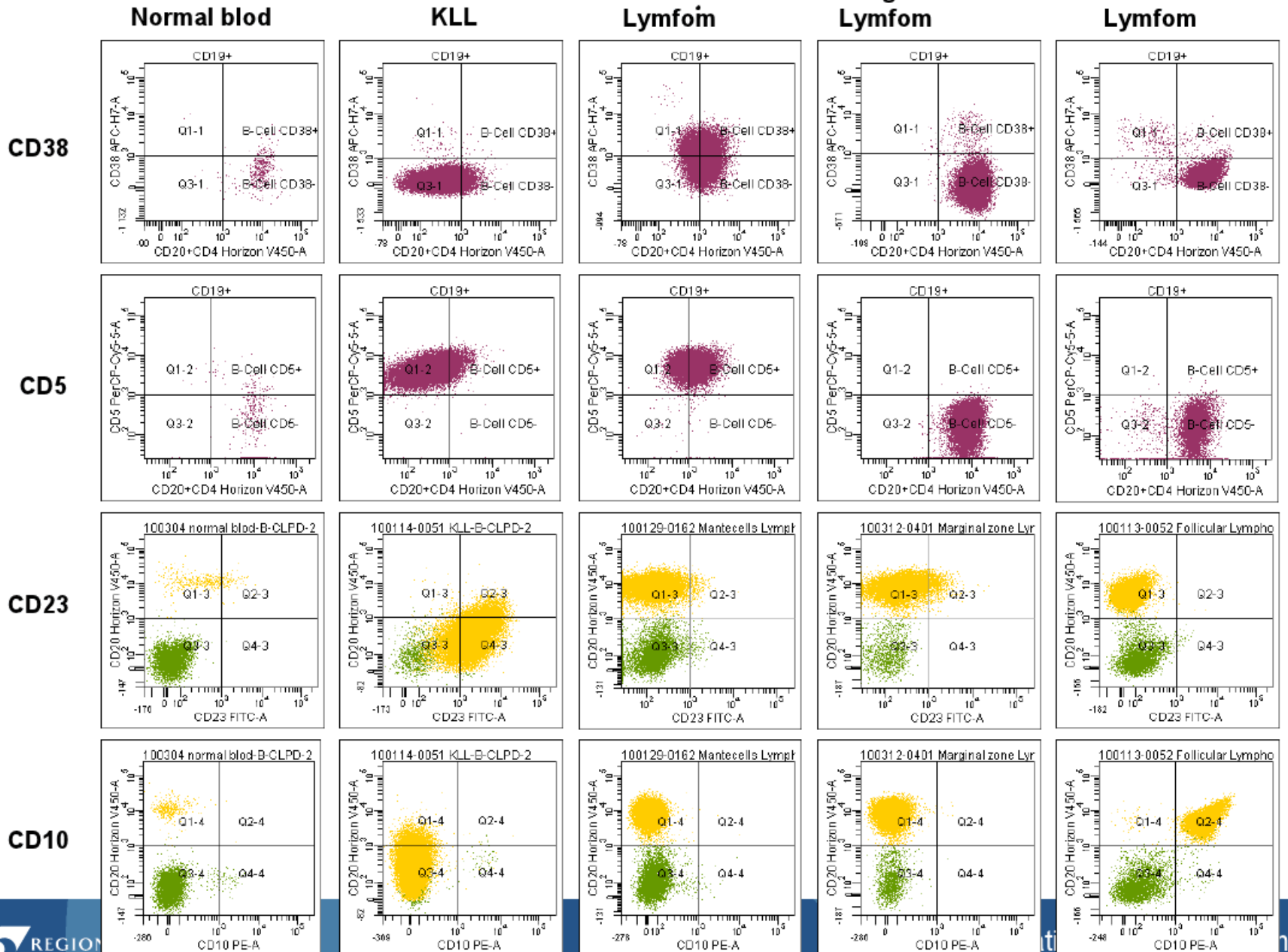


Diagnose

Dag 15

Dag 29

L.Osnes?



Avvik ved bedømming, NA

- **Mottakskontroll av monoklonale antistoff.**
 - ✓ Sjekk opp mot gammel lot
 - ✓ Titrering
- **HLA B27 analysen for prøver med WBC tall mellom 3,5 og 9,4 x 10⁹/L**
 - ✓ Nødvendig med tiltak hvis WBC tall faller utenom?

Fremtidig mål:

- Akkreditering for alle våre flowcytometrianalyser

