

**T05/24: Imunofenotypizace (studie)**

Tato studie byla realizována na základě dotazníku z roku 2023 (T24/23) a na základě následného doporučení výboru SLI ČSAKI z ledna 2024. V rámci studie jsme testovali možnost měřit nové populace buněk ve vzorcích, které účastníci obdrží pro cyklus IFT1/24. V závislosti na počtu a kvalitě výsledků a následných konzultací s výborem SLI ČSAKI rozhodneme, zda některé nové zkoušky zařadit do EHK jako standardní součást programu IFT.

Seznam testovaných nových zkoušek (u všech měli účastníci možnost vydat jak relativní výsledky v %, tak absolutní počty v jednotce  $\cdot 10^9/L$ ):

- B lymfocyty (CD5+CD19+)
- Izotypově přepnuté paměťové B lymfocyty
- Naivní B lymfocyty
- Aktivované T lymfocyty (HLA-DR+)
- gamma-delta T lymfocyty (CD3+TcR $\gamma\delta$ +)
- T regulační lymfocyty
- Naivní Th lymfocyty

Technicky byla studie realizována jako cyklus T05/24, který běžel paralelně s cyklem IFT1/24.

**Vzorky**

Vzorky byly shodné s cyklem IFT1/24.

**Komentář supervizora**

Studie se zúčastnilo 55 pracovišť, z toho 17 ze Slovenska.

Účastníkům studie nebyl určen konkrétní postup při značení/výpočtu jednotlivých subpopulací.

Vztažné hodnoty byly určeny jako robustní průměry výsledků účastníků.

Dle očekávání jsme u většiny zkoušek získali velice rozptýlené výsledky (CV se většinou pohyboval od 20 do 60 %).

Proto jsme pro jednotlivé zkoušky nastavili  $D_{\max}$  na dvojnásobek CV (resp. průměru CV obou vzorků) s omezením na maximální velikost  $D_{\max} = 100$  %.

**Obecně**

**Nepozorovali** jsme závislost výsledků na:

- použitých reagentů (při měření CD populací byli významněji zastoupeni výrobci: Beckman Coulter (60 % výsledků), Becton Dickinson (13 %), jiní výrobci byli zastoupeni méně než 10 % výsledků účastníků)
- ani na použitých způsobech značení
- ani na použitém systému (single vs. dual platform, většina účastníků používá dual platform)

Je ovšem třeba zdůraznit, že jsme měli k dispozici poměrně málo výsledků, navíc zatížených velkým rozptylem.

Podrobnější informace naleznete ve statistikách na webu, kde jsou výsledky rozdělené do skupin jak podle výrobců reagentů, tak podle způsobů značení buněk.

**B lymfocyty (CD5+CD19+)**

Relativní zastoupení [% z B]: Velmi rozptýlené výsledky, CV u obou vzorků přibližně 100 % (!), např. u vzorku A minimum 1,1 a maximum 57.

Absolutní počet [ $\cdot 10^9/L$ ]: Velmi rozptýlené výsledky, CV u obou vzorků přibližně 90 % (!), např. u vzorku A minimum 0,07 a maximum 0,31.

**Izotypově přepnuté paměťové B lymfocyty**

Relativní zastoupení [% z B]: CV v oblasti 30 %, u obou vzorků byla většina výsledků mezi 10 a 20. Většina účastníků použila značení CD19+CD27+IgD-, čtyři použili CD19+CD27+IgD-IgM-, jeden uvedl CD19+CD20+CD27+ a jeden CD27+ IgM.

Absolutní počet [ $\cdot 10^9/L$ ]: CV byl v oblasti 35 %, u obou vzorků byla většina výsledků mezi 10 a 20.

**Naivní B lymfocyty**

Relativní zastoupení [% z B]: Velmi dobré výsledky, CV do 10 % u obou vzorků. Většina účastníků použila značení CD19+CD27-IgD+, tři použili CD19+CD27-IgD+IgM+, dva uvedli CD19+CD27- a jeden CD27- IgM+.

Absolutní počet [ $\cdot 10^9/L$ ]: CV byl v oblasti 25 %, např. u vzorku A minimum 0,03 a maximum 0,123.

**Aktivované T lymfocyty**

Relativní zastoupení [% z T]: Velmi rozptýlené výsledky, CV u obou vzorků přibližně 50 až 70 %, např. u vzorku A minimum 0,5 a maximum 15.

Absolutní počet [ $\cdot 10^9/L$ ]: Velmi rozptýlené výsledky, CV u obou vzorků přibližně 50 a 75 %, např. u vzorku A minimum 0,007 a maximum 0,196.

**T05/24: Imunofenotypizace (studie)****gamma-delta T lymfocyty (CD3+TcR $\gamma\delta$ +**

Relativní zastoupení [% z T]: Přijatelné výsledky, CV u obou vzorků přibližně 20 %, např. u vzorku A minimum 2,9 a maximum 6,9.

Absolutní počet [ $\cdot 10^9/L$ ]: CV u obou vzorků přibližně 30 %, např. u vzorku A minimum 0,029 a maximum 0,08.

**T regulační lymfocyty**

Relativní zastoupení [% z Th]: Značný rozptyl, CV u obou vzorků přibližně 40 a 30 %, např. u vzorku A minimum 0,75 a maximum 7,9. Téměř všichni účastníci použili značení CD3+CD4+CD25+CD127low, tři popsali značení CD4+CD25+CD127low, jeden CD4/CD127/CD25 a jeden Lucid Dura CD45+CD3+CD4+FOXP3+.

Absolutní počet [ $\cdot 10^9/L$ ]: Velmi rozptýlené výsledky, CV u obou vzorků přibližně 70 %, např. u vzorku A minimum 0,007 a maximum 0,256.

**Naivní Th lymfocyty**

Relativní zastoupení [% z Th]: Značný rozptyl, CV u obou vzorků přibližně 30 %, např. u vzorku A minimum 16,9 a maximum 49,6. Většina účastníků použila značení CD3+CD4+CD45RA+, čtyři použili CD3+CD4+CD45RA+CCR7+, jeden uvedl CD4+CD45RA+ a jeden CD3+CD4+CD45RA+CD27+.

Absolutní počet [ $\cdot 10^9/L$ ]: Velmi rozptýlené výsledky, CV u obou vzorků přibližně 50 %, např. u vzorku A minimum 0,1 a maximum 0,5.

**Závěr**

Výsledky, které jsme získali od účastníků, byly ve většině případů velice rozptýlené (CV zpravidla v řádu desítek procent). Tam, kde účastníci mohli použít více způsobů značení, jsme ve většině případů měli větší počet výsledků jen od jednoho z možných druhů značení a od zbylých jen jednotky výsledků – nebylo tak možné posoudit, zda výsledky získané jednotlivými způsoby značení tvoří nějaké homogenní skupiny.

Nejedná se o překvapivé výsledky, velký rozptyl jsme při volném výběru způsobu značení očekávali.

Pro eventuální další pokračování studie navrhneme jasně definovat sledované subpopulace, a to včetně výpočtu % zastoupení ve sledované subpopulaci tam, kde nelze použít zastoupení v lymfocytech. Absolutní počty považujeme v této fázi studie za zbytečně komplikující hodnocení.

Pro další pokračování navrhneme tyto subpopulace:

- B lymfocyty CD5+ (CD5+CD19+)
- gamma-delta T lymfocyty (CD3+TcR $\gamma\delta$ +
- Aktivované T lymfocyty (% zastoupení znaku DR+ v CD3+ lymfocytech)
- T regulační lymfocyty (% zastoupení CD25+CD127low v CD4+ T lymfocytech)
- Naivní B lymfocyty (% zastoupení CD27-IgD+ v CD19+ B lymfocytech)
- Izotypově přepnuté paměťové B lymfocyty (% zastoupení CD27+IgD- v CD19+ B lymfocytech)

Výsledky studie a výše uvedené návrhy projednáme se zástupci výboru SLI ČSAKI a následně rozhodneme, zda některé subpopulace v budoucnu zařadíme do programu IFT (ať již v režimu studie nebo běžných zkoušek).

Odborná supervize: Mgr. Karolína Jankovičová, Ph.D.  
Fakultní nemocnice Hradec Králové  
Ústav klinické imunologie a alergologie  
Sokolská 581  
500 05 Hradec Králové  
e-mail: [karolina.jankovicova@fnhk.cz](mailto:karolina.jankovicova@fnhk.cz)

MUDr. Helena Posová, CSc.  
1. LF UK a VFN  
KIA laboratoř ÚLBLD  
Karlovo náměstí 32  
121 11 Praha 2  
e-mail: [hmare@lf1.cuni.cz](mailto:hmare@lf1.cuni.cz)

**Přílohy**

Jako přílohu této zprávy jednotliví účastníci cyklu dále dostávají:

Název přílohy	Poznámka
Osvědčení o účasti	Dostávají účastníci, kteří splnili podmínky pro jeho vystavení.
Výsledkový list	Dostávají účastníci, kteří uvedli kvantitativní výsledky.
Komplexní statistika	Pouze pro zkoušky s kvantitativními výsledky a dvěma vzorky.

Přílohy jsou identifikovány svým názvem, označením cyklu a kódem účastníka a jsou určeny pouze pro potřebu účastníka.

**Další informace**

Závěrečná zpráva s výjimkou příloh je veřejná. Jak účastníkům, tak ostatním odborníkům, jsou na adrese [www.sekk.cz](http://www.sekk.cz) volně k dispozici další informace, zejména:

- Souhrnný přehled výsledků tohoto cyklu včetně této závěrečné zprávy.
- Kritéria ( $D_{max}$ ) pro hodnocení kvantitativních výsledků.

---

**T05/24: Imunofenotypizace (studie)**

---

- Dokument *Plán EHK* (obsahuje informace, které se týkají jak tohoto cyklu, tak EHK obecně).
- Vysvětlení obsahu jednotlivých výše uvedených příloh.
- Kontakt na poskytovatele EHK a na koordinátora EHK a seznam všech supervizorů včetně kontaktů.