

## Lymfocytfunktion – FASCIA

(Flow-cytometric assay of specific cell-mediated immune response in activated whole blood)

### Bakgrund

Utredning av misstänkt primär eller sekundär immundefekt i det adaptiva immunförsvaret.

Lymfocytfunktion mäter T- och B-cellers förmåga till proliferation efter stimulering med mitogen. Klassiska mitogen som används är: phytohemagglutinin (PHA) och concanavalin A (ConA) som båda är T-cellsmitogen samt pokeweed mitogen (PWM) vilket är ett T-cellsberoende mitogen för B-celler.

PHA, ConA och PWM är lektiner som binder in till kolhydratstrukturerna på T-cellernas yta, bl.a. T-cells receptorn, vilket leder till aktivering och proliferation. ConA behöver normalt fungerande monocyter/makrofager för att kunna aktivera T-celler.

### Svar/Tolkning/Bedömning

Referensintervallet baseras på reanalys (2024) av blod (insamlat under 2018) från 22 friska vuxna för PHA samt ConA, och 20 friska vuxna för PWM. Resultat är min-max resultat.

## Referensintervall

Blaster	Mitogen	Medelvärde*	Median	Referensintervall* (min-max)
CD4+ T-celler	PHA	2630	2180	460 - 6100
CD8+ T-celler	PHA	3870	3640	1120 – 11490
CD4+ T-celler	ConA	2560	2340	610 – 4710
CD8+ T-celler	ConA	3020	2560	750 – 6410
CD4+ T-celler	PWM	2030	1620	910 – 5930
CD8+ T-celler	PWM	710	650	230 – 1910
CD19+ B-celler	PWM	350	260	20 - 1290

Referensintervall gäller från och med 2024-09-16 och tidigare resultat kan inte bedömas mot nya referensintervallet.

För kontroll av att aktuella celltyper finns i tillräcklig mängd önskas även ett blodprov för analys av Lymfocytprofil Bas/Basundersökning lymfocyter (T/B/NK).

Resultaten med varje mitogen kommenteras i princip som utebliven, låg eller normal aktivering/blastbildning.

## Felkällor

Mycket låga eller mycket höga lymfocytkoncentrationer. Analys utförs inte om lymfocytkoncentration  $<0,5 \times 10^9/L$ .

Immunsupprimerade läkemedel med systemisk effekt kan påverka analysresultaten, som azatioprin, cyclosporin, mycofenolat och biologiska läkemedel (influximab, adalimumab, tocilizumab).

Lymfocytproliferation som svar på mitogenstimulering minskar med ökande ålder.

## Metodik/mätprincip

T- och B-celler i helblod stimuleras med polyklonala mitogener. Stimuleringen aktiverar cellerna till proliferering och startar blastbildning. Med hjälp av flödescytometrianalys särskiljs blasterna genom sin större storlek från vilande, icke-aktiverade samt apoptotiska lymfocyter. Granulocyter, och de flesta monocyter, dör under den sju dagar långa inkuberingen. Erytrocyterna lyseras innan flödesanalysen. För att bestämma fenotypen hos de aktiverade lymfocyterna (blasterna) används fluorokromkonjugerade, monoklonala, antikroppar mot ytmarkörer (CD-markörer). Efter beräkning av resultat anges svaret som antalet blastomvandlade lymfocyter per mikroliter helblod.

## Referenslitteratur

1. Gaines H, Andersson L, Biberfeld G. A new method for measuring lymphoproliferation at the single cell level in whole blood cultures by flow cytometry, *J Immunol Methods* 1996; 195: 63-72
2. Winqvist O. Kapitel 9, Analyser av immunceller. Truedsson L (red): *Klinisk immunologi, Studentlitteratur*, 2012.
3. Marits P, Wikström A-C, Popadic D, Winqvist O, Thunberg S. Evaluation of T and B lymphocyte function in clinical practice using a flow cytometry based proliferation assay. *Clin Immunol.* 2014;153(2):332–342. doi: 10.1016/j.clim.2014.05.010.
4. Lusila P et al. FASCIA Method in the Assessment of Lymphocyte Mitogen Responses in the Laboratory Diagnostics of Primary Immunodeficiencies. *J Clin Immunol.* 2023 Apr;43(3):653-661. doi: 10.1007/s10875-022-01417-z.