

DOI: 10.16505/j.2095-0136.2019.0052

• 论 著 •

两种流式细胞仪检测 CD4⁺T 淋巴细胞结果比较分析

薛秀娟, 刘春华, 张向兵, 刘佳, 闫江舟, 田随安, 孙定勇, 王哲

河南省疾病预防控制中心性病艾滋病防治研究所, 河南 郑州 450016

摘要: **目的** 比较 2 种不同型号流式细胞仪检测 CD4⁺T 淋巴细胞绝对数的一致性。**方法** 对现场收集的 220 例人类免疫缺陷病毒 (HIV) 感染者/艾滋病 (AIDS) 患者全血样本进行 CD4⁺T 淋巴细胞绝对数检测, 分析深圳迈瑞公司 BricyteE6 和美国 BD 公司 FACSClibur 2 种流式细胞仪间及不同抗体组合检测结果的差异。**结果** 随机选择的 30 例样本检测结果显示 BricyteE6 型流式细胞仪批间重复性较好。用 FACSClibur 流式细胞仪 CD45/CD3/CD4/CD8 四色抗体、CD3/CD4/CD8 三色抗体及 BricyteE6 流式细胞仪 CD45/CD3/CD4/CD8 四色抗体分别对 70 例全血样本进行检测, 结果显示 CD4⁺T 淋巴细胞绝对数分别为 (477.65±276.40)、(479.73±241.45) 和 (472.92±259.70) 个/ μ l, 表明不同仪器的三色抗体或四色抗体组合试剂检测结果差异无统计学意义 ($P>0.05$)。对 120 例样本进行批量检测及不同范围的结果分析, 结果显示 2 种流式细胞仪检测结果分别为 (459.85±226.24) 个/ μ l、(435.54±222.78) 个/ μ l, 一致性较高。**结论** 2 种流式细胞仪检测 CD4⁺T 淋巴细胞绝对数一致性较好, 三色抗体组合可满足检测需求。

关键词: HIV/AIDS; 流式细胞仪; CD4⁺T 淋巴细胞; 一致性

中图分类号: R331 **文献标识码:** A **文章编号:** 2095-0136 (2019) 06-0439-04

Comparison of CD4⁺T lymphocytes measured by using two types of flow cytometry instruments

XUE Xiu-juan, LIU Chun-hua, ZHANG Xiang-bing, LIU Jia, YAN Jiang-zhou,

TIAN Sui-an, SUN Ding-yong, WANG Zhe

Center for AIDS/STD Control and Prevention, Center for Disease Control and Prevention of Henan Province, Zhengzhou, Henan 450016, China

Corresponding author: WANG Zhe, E-mail: wangzhe@hncdc.com.cn

Abstract: Objective To compare the consistency of CD4⁺T lymphocytes measured by two types of flow cytometry. **Methods** A total of 220 blood samples of HIV/AIDS were detected for CD4⁺T lymphocyte by using two types of cytometry instruments, the Mindray BricyteE6 and the BD FACSClibur. Different antibody combinations were analyzed and compared. **Results** BricyteE6 showed good repeatability for 30 samples; 70 samples were detected separately by CD3/CD4/CD8, CD45/CD3/CD4/CD8 of FACSClibur, and CD45/CD3/CD4/CD8 of BricyteE6. The absolute numbers of CD4⁺T lymphocytes were (477.65±276.40), (479.73±241.45), and (472.92±259.70) cells/ μ l, respectively. There were no statistically significant difference between the two different instruments, three-color antibody or four-color antibody detections. The average of CD4⁺T lymphocytes of the 120 samples detected by the two instruments were (459.85±226.24) and (435.54±222.78) cells/ μ l, respectively, indicating high consistency in the detection of CD4⁺T lymphocytes by two different types of flow cytometry. **Conclusions** Two types of BricyteE6 and FACSClibur flow cytometry demonstrated high consistency for detecting CD4⁺T lymphocytes and the three-color antibody can satisfy the detecting needs.

Key words: HIV/AIDS; Flow cytometry; CD4⁺T lymphocytes; Consistency

基金项目: 国家十三五“艾滋病和病毒性肝炎等重大传染病防治”科技重大专项 (2018ZX10715009-003-002, 2017ZX10201101-001-010)

作者简介: 薛秀娟, 主管技师, 硕士, 主要从事艾滋病预防与控制研究工作

通讯作者: 王哲, E-mail: wangzhe@hncdc.com.cn

准确可靠的 CD4⁺T 淋巴细胞绝对数检测是评价人类免疫缺陷病毒 (human immunodeficiency virus, HIV) 感染者/艾滋病 (acquired immune deficiency syndrom, AIDS) 患者免疫状况、预测临床分期、监测疾病进展、评价抗病毒药物治疗效果和估测机会性感染的重要指标^[1]。鉴于河南省艾滋病的流行现状, 艾滋病实验室对 CD4⁺T 淋巴细胞检测需求不断增加, 当前国产流式细胞仪不断应用于临床检测, 本研究选择装备有深圳迈瑞公司 BricyteE6 (国产) 和美国 BD 公司 FACSClibur (进口) 2 种型号流式细胞仪的艾滋病检测实验室对同批 HIV 感染者/AIDS 患者样本在规定的时间内进行 CD4⁺T 淋巴细胞检测分析, 发现不同检测仪器、不同抗体组合对结果的影响。在保障检测数据的准确性和可比性前提下, 探讨降低费用的检测方案。同时为全省流式细胞仪检测室间质评方案提供参考数据, 为进一步完善全省不同型号流式细胞仪的网络化管理提供思路。

1 对象和方法

1.1 研究对象 以 220 例 HIV 感染者/AIDS 患者为研究对象进行调查, 通过采集以上病例全血样本进行检测, 所有样本经有资质的确证实验室检测阳性。本次研究调查对象均签署知情同意书。对有明显心理疾病或精神疾病影响研究者进行排除。

1.2 研究方法 依托研究对象所在地区的疾病预防控制中心艾滋病筛查实验室人员进行采样, 每例研究对象均采集 EDTA 抗凝全血 8~10 ml。所有样本分别用深圳迈瑞公司 BricyteE6 型流式细胞仪及配套试剂 (CD45/CD3/CD4/CD8 四色抗体)、美国 BD 公司 FACSClibur 流式细胞仪及相应的试剂 (CD3/CD4/CD8 三色抗体、CD45/CD3/CD4/CD8 四色抗体), 严格按照说明书操作步骤进行 CD4⁺T 淋巴细胞绝对数检测。

1.3 统计学分析 采用 SPSS 19.0 软件进行数据处理, 对仪器间检测结果进行相关性分析, 非参数 Mann-Whitney 检验比较 CD4⁺T 淋巴细胞绝对数差异。P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 批间重复性检测 随机选择 30 例 HIV 感染者/AIDS 患者全血样本进行 CD45/CD3/CD4/CD8 四色抗体标记、染色, 采用 BricyteE6 型流式细胞仪进行批间重复性检测, 所得 CD4⁺T 淋巴细胞绝对数分别为 (738.57±388.96) 个/μl、(711.47±361.13) 个/μl, 经统计学分析, 差异无统计学意义 (P=0.480)。相关性分析结果见图 1。

2.2 不同仪器及抗体组合结果分析 对 70 例 HIV 感染者/AIDS 患者全血样本同时进行 FACSClibur 流式细胞仪 CD45/CD3/CD4/CD8 四色抗体、CD3/CD4/CD8 三色抗体及 BricyteE6 流式细胞仪 CD45/CD3/CD4/CD8 四色抗体检测, 所得 CD4⁺T 淋巴细胞绝对数分别为 (477.65±276.40)、(479.73±241.45)、(472.92±259.70) 个/μl。以 FACSClibur 流式细胞仪 CD45/CD3/CD4/CD8 四色抗体为参照方法^[2], 3 种方法检测结果差异无统计学意义, 见表 1。

2.3 批量检测分析 用 FACSClibur 仪器 CD3/CD4/CD8 三色抗体、BricyteE6 仪器 CD45/CD3/CD4/CD8 四色抗体对 120 例样本进行批量检测, 2 种方法检测结果分别为 (459.85±226.24)、(435.54±222.78) 个/μl, 经统计学分析, 差异无统计学意义 (Z=14.171, P=0.000)。相关性: Y=0.972 1X+6.512 7, R²=0.974 5, 见图 2。

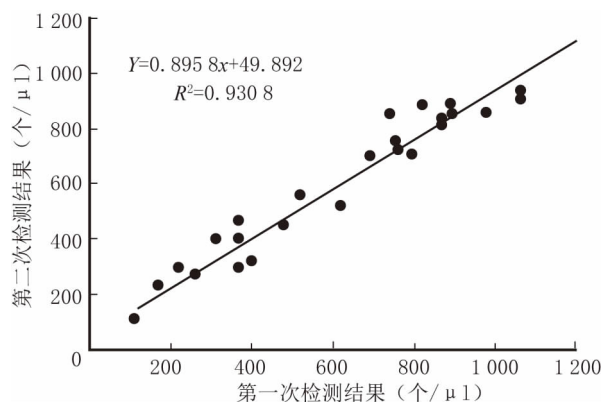


图 1 BricyteE6 流式细胞仪批间重复性检测的相关性分析

表 1 FACSClibur 与国产流式细胞仪不同抗体方法检测结果 (个/μl)

检测方法	范围值	$\bar{x} \pm s$	以 FACSClibur 四色抗体检测为参照		
			mean bias±s	R 值	P 值
FACSClibur					
四色抗体	23~1 459	477.65±276.40	—	—	
三色抗体	20~1 282	479.73±241.45	-4.73±58.67	0.99	0.982 3
BricyteE6 四色抗体	20~1 159	472.92±259.70	-5.42±36.41	0.97	

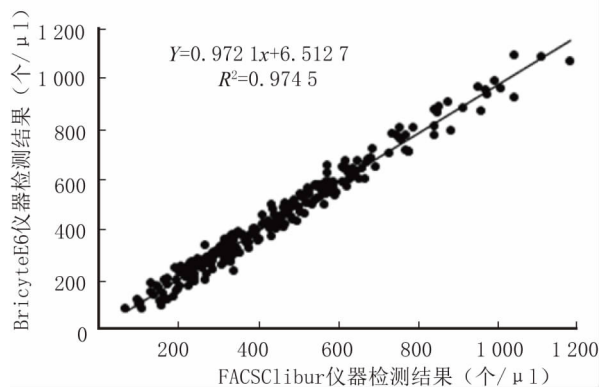


图 2 FACSClibur 与 BricyeteE6 流式细胞仪检测结果相关性分析

2.4 两种流式细胞仪不同检测范围的检测结果比较情况 进一步对 120 例 HIV 感染者/AIDS 患者全血样本的批量检测结果进行分析, 发现 2 种仪器在 ≤ 200 ($201 \sim 350$) 个/ μl 及 ≥ 500 个/ μl 的检测结果范围内检测值差异均无统计学意义 ($P > 0.05$), 见表 2。

3 讨论

由于临床检测仪器的不同而导致结果间的差异, 是目前实验室面临的问题^[3]。鉴于流式细胞仪检测的时效性^[4-5], 本研究在同一实验室对同批标本应用

表 2 2 种仪器对 CD4⁺T 淋巴细胞不同检测范围结果比较 (个/ μl)

检测仪器	≤ 200 个/ μl			$201 \sim 350$ 个/ μl			$351 \sim 500$ 个/ μl			≥ 500 个/ μl		
	检测数	检测值	范围值	检测数	检测值	范围值	检测数	检测值	范围值	检测数	检测值	范围值
FACSClibur	13	174.86 \pm 38.38	82~200	24	272.45 \pm 37.87	201~347	37	424.21 \pm 48.76	352~500	46	681.27 \pm 151.80	503~1 091
BricyeteE6	13	164.18 \pm 47.97	67~269	24	276.51 \pm 50.33	175~376	37	427.08 \pm 62.84	318~567	46	688.05 \pm 161.71	466~1 178
mean bias \pm s		-16.31 \pm 35.69			-4.06 \pm 33.29			-2.72 \pm 33.56			-6.78 \pm 39.35	
R 值		0.679			0.749			0.848			0.970	
Z 值		1.360			0.467			0.275			0.279	
P 值		0.180			0.642			0.784			0.780	

不同抗体组合试剂在不同型号的流式细胞仪进行 CD4⁺T 淋巴细胞检测。BricyeteE6 仪器检测随机选择的 30 例样本显示本次检测样本批间重复性差异无统计学意义, 相关性较好, 与陈杰等^[6]对 BricyeteE6 仪器和 Cytomics FC500 仪器一致性研究得到相同的结论。

三色抗体 CD4/CD8/CD3 以 CD3⁺ 细胞群进行 T 淋巴细胞设门, 四色抗体 CD4/CD8/CD3/CD45 以 CD45⁺ 细胞群设门, 有报道不同的设门参数可能会造成结果较小的变化^[7]。本研究以 FACSClibur 仪器应用 CD45/CD3/CD4/CD8 四色抗体为参照方法^[2], 发现 FACSClibur 仪器 CD3/CD4/CD8 三色抗体及 BricyeteE6 仪器 CD45/CD3/CD4/CD8 四色抗体检测 CD4⁺T 淋巴细胞绝对数差异无统计学意义, 未发现由 CD3⁺/CD45⁺ 不同细胞群圈门引起的检测结果差异。该结论提示进口仪器试剂及国产仪器试剂具有同样的检测效能, 临床应用中可节省检测费用, 后期将通过增加样本量进一步分析验证。

在以上重复性检测及与对照方法比较的基础上, 用 FACSClibur 仪器 CD3/CD4/CD8 三色抗体、BricyeteE6 仪器 CD45/CD3/CD4/CD8 四色抗体对 120 例 HIV 感染者/AIDS 患者样本进行批量平行检测, 结果显示 2 种仪器总体一致性较好。进一步对 CD4⁺T 淋巴细胞绝对数检测范围进行比较

发现, 虽然 2 种仪器在不同检测范围间差异无统计学意义, 但 2 种仪器对低数值的 CD4⁺T 淋巴细胞绝对数相关性低于高数值。该结果是否提示不同检测仪器对不同检测范围的淋巴细胞检测灵敏度不同, 有待于进一步研究。此外, 该结论可为全省不同型号的流式细胞仪检测的室间质评结果的评价提供思路, 如对不同流式细胞仪检测质控样本结果一致性分析, 质评参数的合理设置等都需要进一步探讨。

由于目前我国流式细胞仪淋巴细胞分析还没有公认的标准化方案^[8-9], 虽然本研究发现不同型号的流式细胞仪检测 CD4⁺T 淋巴细胞绝对数差异无统计学意义, 也与国内类似研究结论一致^[10], 但后期仍需继续通过增加参评实验室数量和比较参数, 对仪器、实验室间的检测数据做进一步的分析, 及时发现网络实验室检测存在的问题, 真正为艾滋病预防控制提供准确、详实、可靠的检测数据。

参考文献

[1] Clift IC. Diagnostic flow cytometry and the AIDS pandemic [J]. Lab Med, 2015, 46 (3): e59-64.
 [2] Aggarwal P, Bhattar S, Bhalla P, et al. Correlation between venereal diseases research laboratory titers and CD4 T-lymphocyte count determined by flow cytometry in HIV-infec-

- ted adults: a 5-year study [J]. Indian J Sex Transm Dis AIDS, 2018, 39 (1): 13-17.
- [3] Whitby L, Whitby A, Fletcher M, *et al.* Current laboratory practices in flow cytometry for the enumeration of CD4 (+) T-lymphocyte subsets [J]. Cytometry B Clin Cytom, 2015, 88 (5): 305-311.
- [4] Pham MD, Agius PA, Romero L, *et al.* Performance of point-of-care CD4 testing technologies in resource-constrained settings: a systematic review and meta-analysis [J]. BMC Infect Dis, 2016, 16 (1): 592.
- [5] Vogt F, Van den Bergh R, Bernasconi A, *et al.* Using BD vacutainer CD4 stabilization tubes for absolute cluster of differentiation type 4 cell count measurement on BD facs count and partec cyflow cytometers: a method comparison study from Zimbabwe [J]. Plos One, 2015, 10 (8): e0136537.
- [6] Chen J, Zhang JB, Wang ZY, *et al.* A comparative study for BriCyte E6 cytometry and Cytomics FC500 flow cytometry in T lymphocyte subsets analysis [J]. Shiyong Yiyuan Linchuang Zazhi, 2018, 15 (2): 22-25. (in Chinese)
陈杰, 张剑波, 汪智英, 等. BriCyte E6 和 Cytomics FC500 流式细胞仪在 T 淋巴细胞亚群分析中的对比研究 [J]. 实用医院临床杂志, 2018, 15 (2): 22-25.
- [7] Jiang Y, Xiao Y, Xu JQ, *et al.* A guideline for quality assurance of CD4⁺ T lymphocyte test in people living with HIV/AIDS (2013) [M]. Beijing: Chinese Center for Disease Control and Prevention, 2013. (in Chinese)
蒋岩, 肖瑶, 徐建青, 等. 艾滋病病毒感染者及艾滋病患者 CD4⁺ T 淋巴细胞检测及质量保证指南 (2013 版) [M]. 北京: 中国疾病预防控制中心, 2013.
- [8] Pockley AG, Foulds GA, Oughton JA, *et al.* Immune cell phenotyping using flow cytometry [J]. Curr Protoc Toxicol, 2015, 66 (18): 1-34.
- [9] Yang ZH, Hong YY. Diagnostic value of flow cytometry in patients with acute acute mixed-lineage leukemia [J]. Zhongguo Xiandai Yixue Zazhi, 2013, 23 (5): 67-71. (in Chinese)
杨芝红, 洪燕燕. 流式细胞术诊断急性混合细胞白血病临床意义研究 [J]. 中国现代医学杂志, 2013, 23 (5): 67-71.
- [10] Wang WW, Xi D, Yuan XL, *et al.* Comparison of three different flow cytometers in the clinical assessment of lymphocyte subsets [J]. Zhonghua Jianshan Yixue Zazhi, 2016, 39 (5): 361-364. (in Chinese)
王维维, 奚迪, 袁向亮, 等. 不同流式细胞分析仪检测淋巴细胞亚群的比较研究 [J]. 中华检验医学杂志, 2016, 39 (5): 361-364.

收稿日期:2018-11-28 修回日期:2019-08-29 责任编辑:刘磊

论文撰写规范

摘要 (文摘) 是科技论文的一部分, 它是解决读者既要尽可能掌握浩瀚的信息, 又要面对自身精力十分有限这一对矛盾的有效手段。

文摘是以提供文献内容梗概为目的, 不加评论和解释, 简明确切地记述文献重要内容的短文。摘要应具有自明性和独立性, 并拥有与一次文献同等量的主要信息。即不阅读全文就能获得必要的信息。它的详简程度取决于文献的内容, 通常中文摘要以不超过 400 字为宜。应以第三人称的语气书写。

摘要的内容应包括四个要素, 即目的、方法、结果、结论。(1) 目的: 指研究的前提和缘起, 即为什么要作此项研究。(2) 方法: 指研究所用的原理、对象、观察和实验的具体方法等。(3) 结果: 指研究的结果、效果、数据等, 着重反映创新性的切实可行的成果。(4) 结论: 指对结果进行综合分析, 逻辑推理得出的判断。英文摘要的内容与中文摘要的内容要求大体一致。应包括文题、作者姓名 (汉语拼音), 其姓的字母均大写, 单名两个字不加连字符, 复姓在前, 名首的字母大写, 名两字间以半字线相连。