

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ПРИМЕНЕНИЯ МОНОКЛОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ «КЛИМ- ТЕСТ» ДЛЯ ФЕНОТИПИРОВАНИЯ КЛЕТОК ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ С МОНОКЛОНАЛЬНЫМИ АНТИТЕЛАМИ ЗАРУБЕЖНЫХ ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ

Попова А.А.¹, Серебровская Л.В.¹, Иванова Л.А.¹, Хохлова О.Н.¹,
Новожилов С.Н.²

¹ ФБУН «Центральный НИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора, Москва, Россия

² Evrogen JSC, Москва, Россия

Резюме. Несмотря на широкое применение проточной цитофлуориметрии в различных областях современной медицины, на российском рынке представлены в основном зарубежные крупные фирмы-производители. Цель: сравнить набор реагентов для проточной цитометрии Российской фирмы-производителя с зарубежными моноклональными антителами на проточных цитофлуориметрах разных производителей. Материалом для исследования являлась венозная кровь. Исследуемые показатели измерялись методом проточной цитофлуориметрии. Для иммунофенотипирования применялись моноклональные антитела Becton Dickinson (USA), Лаборатория Константа (Россия) и Beckman Coulter (USA). Анализ Блэнда–Альтмана показал практически полное отсутствие систематического расхождения и относительно небольшой разброс полученных значений. Критерий Фридмана выявил, что значения измеряемых параметров различными моноклональными антителами не отличаются по уровню значимости 0,01. В результате проведенных исследований мы получили данные, что, во-первых, реагенты «Клим-Тест» в сравнении с реагентами зарубежных фирм имеют практически полное отсутствие систематического расхождения и относительно небольшой разброс значений. Реагенты «Клим-Тест» могут быть использованы на проточных цитометрах компаний Becton Dickinson (USA) и Beckman Coulter (USA). Во-вторых, реагент одинаково работает при уровне CD4-лимфоцитов выше и ниже 500 клеток/мкл. В-третьих, применение реагентов «Клим-Тест» с трехцветной меткой по CD45 (CD3-FITC/CD4-PE/CD45-PE-Cy5) соответствует стандартам подсчета CD4-лимфоцитов у ВИЧ-инфицированных пациентов, что позволяет рекомендовать данный реагент для мониторинга ВИЧ-инфекции.

Ключевые слова: моноклональные антитела, гейтирование по CD45, двухплатформенная методика

Адрес для переписки:

Попова Анна Анатольевна
к.м.н., научный сотрудник ФБУН «Центральный
НИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора
111123, Россия, Москва, ул. Новогиреевская, За.
E-mail: asya-med@mail.ru

Поступила 09.07.2012

Отправлена на доработку 04.08.2012

Принята к печати 23.10.2012

Авторы:

Попова А.А. — к.м.н., научный сотрудник
ФБУН «Центральный НИИ эпидемиологии»
Роспотребнадзора, Москва

Серебровская Л.В. — к.м.н., старший научный
сотрудник ФБУН «Центральный НИИ
эпидемиологии» Роспотребнадзора, Москва

Иванова Л.А. — научный сотрудник
ФБУН «Центральный НИИ эпидемиологии»
Роспотребнадзора, Москва

Хохлова О.Н. — младший научный сотрудник
ФБУН «Центральный НИИ эпидемиологии»
Роспотребнадзора, Москва

Новожилов С.Н. — сотрудник Evrogen JSC, Москва

COMPARATIVE STUDY OF “KLIM-TEST” MONOCLONAL ANTIBODIES FOR PHENOTYPING OF PERIPHERAL BLOOD CELLS WITH MONOCLONALS FROM FOREIGN PRODUCERS

Popova A.A.^a, Serebrovskaya L.V.^a, Ivanova L.A.^a,
Khokhlova O.N.^b, Novozhilov S.N.^a

^a Central Research Institute of Epidemiology, Federal Supervision Service for Consumer Rights Protection and People's Welfare, Moscow, Russian Federation

^b Evrogen JSC, Moscow, Russian Federation

Abstract. In view of wide-spread usage of flow cytometry (FC) in various areas of modern medicine, Russian market is still dominated by foreign manufacturers of monoclonal antibodies (MAbs). This problem is accomplished by lack of information about Russian producers of MAbs. Objective: to compare a set of FC reagents produced by a Russian manufacturer with MAbs for FC from different foreign manufacturers. Venous blood served as biomaterial for this study. The parameters under study were measured by FC techniques. Comparative immunophenotyping was performed with MAbs from Becton Dickinson (USA), Lab Constant (Russia), and Beckman Coulter (USA). Virtually complete absence of systematic differences and a relatively small spread of values was revealed by means of Bland–Altman analysis. The values of parameters, as measured with different MAbs, did not differ from one another by significance level of 0.01, according to Friedman criterion. The following evidence has been yielded in present study: (1) data obtained with “Klim-Test” reagents do not exhibit any systematic differences, as compared with MAbs from foreign manufacturers, and they show a relatively small scatter of results. “Klim-Test” reagents may be applied for Becton Dickinson and Beckman Coulter flow cytometers. (2) These reagents are equally effective at the levels of CD4-lymphocytes above 500 cells/mcL, and below these values. (3) Usage of “Klim-Test” reagents with a three-color label for CD45 cells (CD3-FITC/CD4-PE/CD45-PE-Sy5) corresponds to the standards for CD4-lymphocyte count in HIV-infected patients, thus allowing it to recommend this reagent for HIV-infection monitoring. (*Med. Immunol.*, 2013, vol. 15, N 1, pp 177-184)

Keywords: monoclonal antibodies, CD45 gating, double-platform approach

Address for correspondence:

Popova Anna A.
PhD (Medicine), Research Associate Central Research Institute of Epidemiology, Federal Supervision Service for Consumer Rights Protection and People's Welfare, Moscow
111123, Russian Federation, Moscow,
Novogireevskaya str., 3a
E-mail: asya-med@mail.ru

Received 09.07.2012

Revision received 04.08.2012

Accepted 23.10.2012

Authors:

Popova A.A., PhD (Medicine), Research Associate Central Research Institute of Epidemiology, Federal Supervision Service for Consumer Rights Protection and People's Welfare, Moscow

Serebrovskaya L.V., PhD (Medicine), Senior Research Associate Central Research Institute of Epidemiology, Federal Supervision Service for Consumer Rights Protection and People's Welfare, Moscow

Ivanova L.A., Research Associate Central Research Institute of Epidemiology, Federal Supervision Service for Consumer Rights Protection and People's Welfare, Moscow

Khokhlova O.N., Research Associate Central Research Institute of Epidemiology, Federal Supervision Service for Consumer Rights Protection and People's Welfare, Moscow

Novozhilov S.N., Associate Evrogen JSC, Moscow

Введение

Современная диагностика гематологических заболеваний не ограничивается только клиническим анализом форменных элементов крови. Проточная цитофлуориметрия с помощью моноклональных антител дала возможность типировать клетки не только благодаря их морфологическим различиям, но и за счет набора поверхностных антигенов и рецепторов, характерных для строго определенных клеток и их функционального состояния [1]. Поэтому не удивительно, что метод проточной цитометрии прочно вошел в лабораторную практику многих центров.

Например, при ВИЧ-инфекции, где важное значение имеет определение абсолютного и относительного количества CD4-лимфоцитов [2], все чаще используют возможности проточной цитометрии. Shagser и соавт. предлагают использовать процент «наивных» CD4-лимфоцитов в качестве нового маркера для определения более раннего момента показаний к началу АРВТ [11]. Изменение фенотипа CD8-лимфоцитов (экспрессия CD38) имеет большую значимость для оценки прогрессирования ВИЧ-инфекции [6, 9, 10].

Помимо этого методом проточной цитометрии можно получать самые разные данные: определять содержание в клетке ДНК и РНК, суммарное количество белков и количество специфических белков, узнаваемых моноклональными антителами, исследовать клеточный метаболизм (например, измерять внутриклеточный pH), изучать транспорт ионов кальция и кинетику ферментативных реакций [8].

Несмотря на широкое применение проточной цитофлуориметрии в различных областях современной медицины, на российском рынке представлены в основном зарубежные крупные фирмы-производители.

Данная проблема усугубляется практически недостаточной информацией о российских производителях моноклональных антител для нужд проточной цитофлуориметрии.

Цель исследования: сравнить набор реагентов для проточной цитометрии «КЛИМ-Тест» (ООО «Лаборатория Константа», Россия) с зарубежными моноклональными антителами (Becton Dickinson, USA и Beckman Coulter, USA) на проточных цитофлуориметрах разных производителей (Becton Dickinson, USA и Beckman Coulter, USA).

Материал и методы

Материалом для исследования являлась венозная кровь. Забор крови для иммунофенотипирования и общего анализа крови проводился

у пациентов утром натощак, в вакуумную пробирку VACUTANER, содержащую антикоагулянт К₃ЭДТА. Сразу же после забора кровь аккуратно перемешивали с антикоагулянтом во избежание образования сгустков.

Для определения основных гематологических показателей (общего количества эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов, гемоглобина, лейкоцитарной формулы крови) образцы исследовались на гематологическом анализаторе ACT diff, Beckman Coulter.

Для иммунофенотипирования применялись моноклональные антитела (MaT) Becton Dickinson (USA), Лаборатория Константа (Россия) и Beckman Coulter (USA). Пробоподготовка к иммунофенотипированию осуществлялась согласно инструкции MaT по безотмывочной технологии в два этапа (внесение MaT, внесение лизирующего раствора). Использовали следующие комбинации MaT:

- 1) MultiTEST CD3-FITC/CD4-PE/CD45-PerCP, Becton Dickinson, USA
- 2) MultiTEST CD3-FITC/CD8-PE/CD45-PerCP/CD4-APC, Becton Dickinson, USA
- 3) MultiTEST CD3-FITC/CD16+56-PE/CD45-PerCP/CD19-APC, Becton Dickinson, USA
- 4) «КЛИМ-Тест», CD3-FITC/CD4-PE/CD45-PE-Cy5, Лаборатория Константа, Россия
- 5) «КЛИМ-Тест», CD3-FITC/CD8-PE/CD45-PE-Cy5, Лаборатория Константа, Россия
- 6) «КЛИМ-Тест», CD3-FITC/CD16+56-PE/CD45-PE-Cy5, Лаборатория Константа, Россия
- 7) «КЛИМ-Тест», CD3-FITC/CD19-PE/CD45-PE-Cy5, Лаборатория Константа, Россия
- 8) IOTest CD3-PCy5/CD4-PE/CD45-FITC, Beckman Coulter, USA

Лизирующий раствор выбирали в соответствии с фирмой-производителем моноклональных антител (Лаборатория Константа – Реагент для лизирования эритроцитов, Beckman Coulter – Optilyse C-однокомпонентный лизирующий раствор, Becton Dickinson – Lysing Solution).

Нами были проанализированы результаты измерений относительного и абсолютного содержания субпопуляций лимфоцитов в двух группах образцов. В 1 группе был 21 образец крови, во 2-ой группе – 15. Опытные образцы были взяты у пациентов, наблюдавшихся в ФНМЦ ПБ СПИД по поводу ВИЧ-инфекции или других инфекционных заболеваний.

Опытные образцы 1 группы использовали для определения абсолютного и относительного количества CD4- и CD3-лимфоцитов на двух приборах разных фирм-производителей. На проточном цитофлуориметре FACSCalibur (BD, USA), используя программное обеспечение CellQuest, были проанализированы пробы при-

готовленные с помощью МаТ «КЛИМ-Тест» (Лаборатория Константа, Россия) и MultiTEST (Becton Dickinson, USA). При анализе на Epics (Coulter, USA) были использованы пробы, приготовленные с помощью МаТ «КЛИМ-Тест» (Лаборатория Константа, Россия) и IOTest (Beckman Coulter, USA).

Опытные образцы 2-ой группы использовали для определения абсолютного и относительно количества CD8- и CD19-лимфоцитов также на двух проточных цитометрах разных фирм-производителей. При анализе на FACSCalibur (Becton Dickinson, USA) в программе CellQuest были использованы пробы, приготовленные с помощью МаТ «КЛИМ-Тест» (Лаборатория Константа, Россия) и MultiTEST (Becton Dickinson, USA). При анализе на Epics (Beckman Coulter, USA) были использованы пробы, приготовленные с помощью реагентов «КЛИМ-Тест» (Лаборатория Константа, Россия).

Для определения относительного содержания субпопуляций лимфоцитов использовали анализ с гейтированием по CD45. На рисунке 1 представлен алгоритм анализа образца на проточных цитометрах FACSCalibur (BD, USA) и Epics (Beckman Coulter, USA) с использованием МаТ CD3-FITC/CD4-PE/CD45-PE-Cy5 («КЛИМ-Тест», Лаборатория Константа, Россия) с целью определения относительного содержания CD4-лимфоцитов. Для идентификации лейкоцитов и лимфоцитов используется CD45 в сочетании с боковым светорассеянием (SS) (рис. 1А, В). Гейт R1 нарисован вокруг CD45-положительных клеток с низким боковым светорассеянием (лимфоциты) [7, 12]. Распределяя клетки из гейта R1 по наличию рецепторов CD4 (рис. 1Б, Г), мы получаем процентное содержание CD4-лимфоцитов. Подсчет абсолютного содержания CD4-лимфоцитов,

как и остальных субпопуляций лимфоцитов, осуществлялся двухплатформенным методом: путем математического пересчета количества лейкоцитов и лимфоцитов в образце периферической крови и полученного процентного содержания CD4-лимфоцитов [3].

Для обработки статистических данных использовалась программа GraphPad Prism5. Рассчитывали следующие показатели: среднее, медиана, минимальное и максимальное значение, стандартное отклонение, критерий Блэнда–Альтмана, критерий Фридмана [4].

Результаты и обсуждение

В таблицах 1 и 2 представлены данные описательной статистики результатов измерения относительных и абсолютных значений субпопуляций лимфоцитов, выполненных различными реагентами на различных приборах.

Особого внимания заслуживает тот факт, что в группу определения относительных и абсолютных значений CD4-лимфоцитов вошли пробы как с высоким, так и с низким содержанием данного показателя (табл. 1).

По данным описательной статистики мы не видим сильных отличий в результатах, полученных при использовании различных методик. Для более информативного представления применим анализ Блэнда–Альтмана (табл. 3, 4). На графиках Блэнда–Альтмана отображалась разность значений количества CD4-лимфоцитов, полученных двумя сравниваемыми методами (по оси y), относительно среднего этих значений (по оси x) (рис. 2). Подсчитывалась средняя разница значений (bias), которая характеризует систематическое расхождение результатов, и границы согласия (Limits of Agreement; LOA),

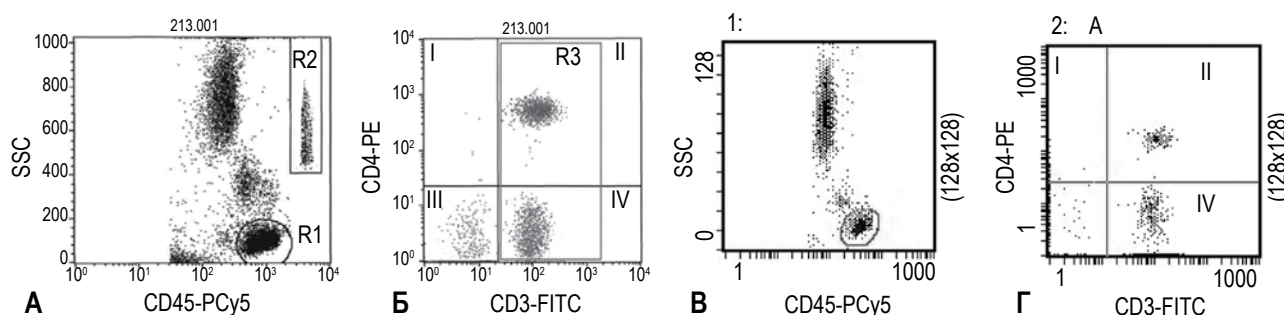


Рисунок 1. Алгоритм определения CD4- и CD3-лимфоцитов с использованием МаТ CD3-FITC/CD4-PE/CD45-PE-Cy5 («КЛИМ-Тест», Лаборатория Константа, Россия)

Примечание. А, Б – алгоритм анализа на проточном цитометре FACSCalibur (BD, USA) и Epics (Beckman Coulter, USA): А – гистограмма распределения лейкоцитов периферической крови с использованием CD45 меченного PCy5. Б – CD3⁺CD4⁺ Т-клетки (квадрант II), R3- CD3-лимфоциты. В, Г – алгоритм анализа на проточном цитометре Epics (Beckman Coulter, USA): В – гистограмма распределения лейкоцитов периферической крови с использованием CD45 меченного PCy5. Г – CD3⁺CD4⁺Т-клетки (квадрант II), CD3-лимфоциты – квадрант II+IV.

характеризующие разброс значений, а также стандартное отклонение от средней разницы значений (SD of bias).

Анализ Блэнда–Альтмана показывает практически полное отсутствие систематического расхождения и относительно небольшой разброс значений как относительных, так и абсолютных значений, CD4-лимфоцитов. Таким образом, измерения, полученные рассмотренными способами, хорошо согласуются друг с другом. Аналогичные результаты мы получили при анализе результатов измерений относительных и абсолютных значений CD3-, CD8- и CD19-лимфоцитов (табл. 3, 4).

Для оценки различия между измерениями, поскольку у нас нет уверенности, что полученные данные подчиняются нормальному распределению, применен также непараметрический аналог дисперсионного анализа повторных измерений – критерий Фридмана. Он применяется для сопоставления показателей, измеренных в трех или более условиях на одной и той же выборке испытуемых. Поскольку р-значения для всех показателей превышают значение $\alpha = 0,01$, делаем вывод, что значения измеряемых параметров для разных условий эксперимента не отличаются по уровню значимости 0,01 (табл. 5) [4].

Также нами были проанализированы абсолютные значения CD4-лимфоцитов в зависимости от величины исследуемых значений. Результаты анализов образцов были разделены на две

группы: выше и ниже 500 клеток/мкл. Основанием для такого разделения послужило показание к началу антиретровирусной терапии при снижении уровня CD4-лимфоцитов меньше 500 клеток/мкл по рекомендации ВОЗ [5]. Р-значение критерия Фридмана для группы с абсолютными значениями CD4-лимфоцитов меньше 500 клеток/мкл равно 0,916, а для группы с абсолютными значениями CD4-лимфоцитов выше 500 клеток/мкл – 0,109. Полученные данные не позволяют сделать вывод о наличии зависимости разности измерений от величины исследуемых показателей.

В результате проведенных исследований делаем следующие выводы: Во-первых, результаты измерений при использовании реагентов «КЛИМ-Тест» (Лаборатория Константа, Россия) в сравнении с реагентами Becton Dickinson (USA) и Beckman Coulter (USA) хорошо согласуются друг с другом, имеют практически полное отсутствие систематического расхождения и относительно небольшой разброс значений. Поэтому реагенты «КЛИМ-Тест» (Лаборатория Константа, Россия) могут быть использованы как на проточных цитометрах компании Becton Dickinson (USA), так и на проточных цитометрах Beckman Coulter (USA). Во-вторых, реагент «КЛИМ-Тест» (Лаборатория Константа, Россия) одинаково работает при уровне CD4-лимфоцитов выше и ниже 500 клеток/мкл. В-третьих, применение реагентов «КЛИМ-Тест» (Лаборатория Константа, Россия) с трехцветной меткой в составе которой есть

ТАБЛИЦА 1. СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РЕЗУЛЬТАТОВ ИЗМЕРЕНИЯ ОТНОСИТЕЛЬНЫХ И АБСОЛЮТНЫХ ЗНАЧЕНИЙ CD4- И CD3-ЛИМФОЦИТОВ [n = 21; M±SD; Me (min-max)]

Методика (прибор + реагент)			
Calibur / КЛИМ-Тест	Calibur / MultiTEST	Epics / КЛИМ-Тест	Epix / IOTest
CD4-лимфоциты, %			
32,13±11,06	32,29±10,54	32,48±11,19	31,86±10,55
27,7 (15,7-54,0)	30,0 (15,0-52,0)	28,30 (15,3-53,3)	28,0 (16,0-51,0)
CD4-лимфоциты, клеток/мкл			
650,0±330,19	659,2±318,96	664,19±334,04	651,24±313,4
574,0 (270,0-1782,0)	602 (258-1716)	604,0 (263,0-1759,0)	598 (275-1683)
CD3-лимфоциты, %			
77,65±6,78	77,81±6,72	77,89±6,57	77,6±6,58
78,30 (61,7-87,3)	77,0 (62,0-88,0)	77,6 (63,3-87,30)	77,2 (62,0-88,0)
CD3-лимфоциты, клеток/мкл			
1552,86±349,1	1555,3±346,5	1558,14±351,9	1551,8±348,9
1516,0 (1064,0-2363,0)	1492,0 (1068,0-2391,0)	1505,0 (1055,0-2400,0)	1488,0 (1094,0-2391,0)

ТАБЛИЦА 2. СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РЕЗУЛЬТАТОВ ИЗМЕРЕНИЯ ОТНОСИТЕЛЬНЫХ И АБСОЛЮТНЫХ ЗНАЧЕНИЙ CD8- И CD19-ЛИМФОЦИТОВ [n = 15; M±SD; Me (min-max)]

Методика (прибор + реагент)		
Calibur / КЛИМ-Тест	Calibur / MultiTEST	Epics / КЛИМ-Тест
CD8-лимфоциты, %		
26,43±7,66	26,93±8,16	26,20±8,16
29,0 (12,0-40,0)	29,0 (13,0-42,0)	29,0 (12,0- 39,0)
CD8-лимфоциты, клеток/мкл		
550,07±177,96	561,3±188,27	543,33±183,6
528,0 (159,0-846,0)	528,0 (172,0-893,0)	505,0 (159,0-810,0)
CD19-лимфоциты, %		
10,65±4,05	10,60±4,15	10,73±3,94
10,0 (5,0-20,0)	10,0 (5,0-19,0)	10,0 (6,0-19,0)
CD19-лимфоциты, клеток/мкл		
243,20±169,92	236,73±156,66	233,8±155,03
187,0 (93,0-739,0)	184,0 (93,0-669,0)	184,0 (94,0-669,0)

ТАБЛИЦА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ АНАЛИЗА ПО МЕТОДУ БЛЭНДА–АЛЬТМАНА ДЛЯ ОТНОСИТЕЛЬНЫХ И АБСОЛЮТНЫХ ЗНАЧЕНИЙ CD4- И CD3-ЛИМФОЦИТОВ (n = 21)

Исследуемые параметры		Прибор + Реагент		
		Calibur	Epics	Calibur / Epics
		КЛИМ-Тест / MultiTEST	КЛИМ-Тест / IOtest	КЛИМ-Тест / КЛИМ-Тест
CD4, %	Bias	-0,1524	0,6238	-0,3476
	SD of bias	1,375	1,192	0,9421
	95% Limits of Agreement	-2,847; 2,543	-1,712; 2,959	-2,194; 1,499
CD4, клеток/мкл	Bias	-9,238	12,95	-14,19
	SD of bias	38,29	32,45	39,41
	95% Limits of Agreement	-84,49; 66,02	-50,65; 76,56	-91,43; 63,05
CD3, %	Bias	-0,1571	-0,2857	-0,2333
	SD of bias	1,357	1,393	0,9911
	95% Limits of Agreement	-2,817; 2,503	-2,444; 3,016	-2,176; 1,709
CD3, клеток/мкл	Bias	-2,429	6,476	-5,238
	SD of bias	28,22	25,86	20,22
	95% Limits of Agreement	-57,74; 52,89	-44,20; 57,16	-44,88; 34,40

CD45 (CD3-FITC/CD4-PE/CD45-PE-Cy5) соответствует стандартам подсчета CD4-лимфоцитов у ВИЧ-инфицированных пациентов, что позволяет рекомендовать данный реагент для монито-

ринга ВИЧ-инфекции. К достоинству реагентов «КЛИМ-Тест» (Лаборатория Константа, Россия) также следует отнести их меньшую стоимость по сравнению с зарубежными производителями.

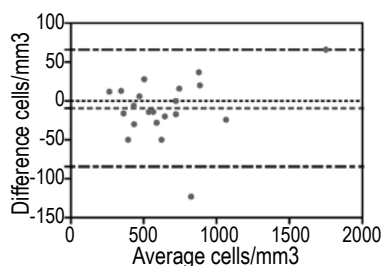
ТАБЛИЦА 4. РЕЗУЛЬТАТЫ АНАЛИЗА ПО МЕТОДУ БЛЭНДА–АЛЬТМАНА ДЛЯ ОТНОСИТЕЛЬНЫХ И АБСОЛЮТНЫХ ЗНАЧЕНИЙ CD8- И CD19-ЛИМФОЦИТОВ (n = 15)

Исследуемые параметры		Реагент + Прибор	
		Calibur	Calibur / Epics
		КЛИМ-Тест / MultiTEST	КЛИМ-Тест / КЛИМ-Тест
CD8, %	Bias	0,5	0,2333
	SD of bias	1,524	1,208
	95% Limits of Agreement	-3,486; 2,486	-2,135; 2,601
CD8, клеток/мкл	Bias	-11,27	6,733
	SD of bias	43,15	29,22
	95% Limits of Agreement	-95,85; 73,32	-50,55; 64,01
CD19, %	Bias	-0,233	0,367
	SD of bias	0,678	0,812
	95% Limits of Agreement	-1,095; 1,562	-1,225; 1,958
CD19, клеток/мкл	Bias	6,467	9,4
	SD of bias	19,75	21,48
	95% Limits of Agreement	-32,25; 45,18	-32,69; 51,49

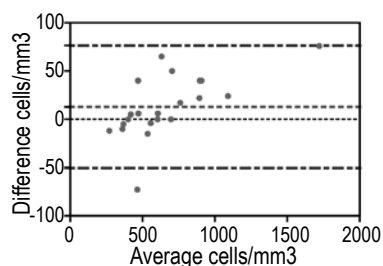
ТАБЛИЦА 5. P-ЗНАЧЕНИЕ КРИТЕРИЯ ФРИДМАНА ДЛЯ ОТНОСИТЕЛЬНЫХ И АБСОЛЮТНЫХ ЗНАЧЕНИЙ CD4-, CD8-, CD3- И CD19-ЛИМФОЦИТОВ

Исследуемый показатель	P-значение критерия Фридмана
CD4-лимфоциты, % (n = 21)	0,313
CD4-лимфоциты, клеток/мкл (n = 21)	0,342
CD8-лимфоциты, % (n = 15)	0,122
CD8-лимфоциты, клеток/мкл (n = 15)	0,195
CD3-лимфоциты, % (n = 21)	0,532
CD3-лимфоциты, клеток/мкл (n = 21)	0,499
CD19-лимфоциты, % (n = 15)	0,156
CD19-лимфоциты, клеток/мкл (n = 15)	0,156

Анализ реагентов КлимТест и MultiTEST на приборе FACSCalibur



Анализ реагентов КлимТест и IOTest на приборе Epics



Анализ реагентов КлимТест на приборах Epics и FACSCalibur

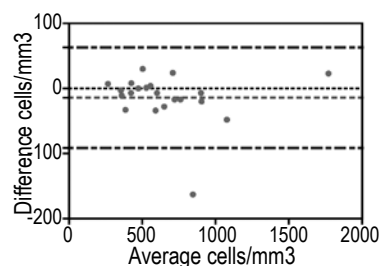


Рисунок 2. Анализ Блэнда–Альтмана для абсолютных значений CD4-лимфоцитов

Список литературы

1. Бурместр Г.Р., Пецутто А. Наглядная иммунология: Пер. с англ. – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2007. – 320 с.
2. ВИЧ-инфекция и СПИД. Клинические рекомендации / под редакцией В.В. Покровского. – 2-е изд., перераб. и доп. – М.: Геотар-Медиа, 2010. – 192 с.
3. ВИЧ-инфекция. Информационный бюллетень № 28 / под редакцией Н.Н.Ладной. – М., 2006. – 24 с.
4. Гланц Стентон. Медико-биологическая статистика / Стентон Гланц. Пер. с англ. – М.: Практика, 1999. – 459 с.
5. Хоффман К., Рокшто Ю.К. Лечение ВИЧ-инфекции 2009. – М.: Р. Валент, 2012. – 736 с.

Ссылки 6-12 см. в References (стр. 184). See References for numbers 6-12 at p. 184.

References

1. Burmestr G.R. Naglyadnaya immunologiya [Visual immunology/ Trans. from angl: G.-R. Byrrmestr, A. Pettstso]. Moscow: BINOM. Laboratoriya znaniy – BINOM. Laboratory of Knowledge, 2007. 320 p.
2. VICH-infektsiya i SPID. Klinicheskie rekomendatsii [Clinical recommendations under the editorship of V. Pokrovsky. - 2-e Izd.]. Moscow: Geotar-Media – Geotar-Media, 2010. 192 p.
3. VICH-infektsiya. Informatsionnyy byulleten' №28/ pod redaktsiey N.N.Ladnoy [HIV-infection. Newsletter №28/ under the editorship of N.N.Ladnaya], Moscow, 2006. 24 p.
4. Glants Stenton. Mediko-biologicheskaya statistika [Trans. from angl.: Stanton Glantz. Medico-biological statistics]. Moscow: Praktika – Practice, 1999, 459 p.
5. Hoffman K. Lechenie VICH-infektsii 2009 [Treatment of HIV-2009/ Christian Hoffmann, Jrgen K.Rockstroh]. Moscow: R.Valent – R.Valent, 2012, 736 p.
6. Borkov G., Qibin L., Bentwich Z. Immune activation correlates better than HIV plasma viral load with CD4 T-cell decline during HIV infection // 8th European conference on clinical aspects and treatment of HIV-infection. Athens, 2001, abstr 535.
7. CDC Guideline for performing singl-platform CD4+T-cell determinations with CD45 gating forpersons infected with HIV. MMWR, Jan 31, 2003 / 52 (RRO2), pp. 1-13.
8. Eidukevicius R., Characiejus D., Janavicius R., Kazlauskaite N., Pasukoniene V., Mauricas M., Den Otter W. A method to estimate cell cycle time and growth fraction using bromodeoxyuridine-flow cytometry data from a single sample. BMC Cancer, 2005, vol. 5, p. 122.
9. Hazenberg M.D., Stuart J.W., Otto S.A. T-cell division in human immunodeficiency virus (HIV)-1 infection is mainly due to immune activation: a longitudinal analysis in patients before and during highly active antiretroviral therapy (HAART). Blood, 2000, vol. 95, pp. 249-255.
10. Rodrigues D.S, Salom o R., Kallas E.G. Profound peripheral T-lymphocyte depletion and activation in disseminated tuberculosis. Braz. J. Infect Dis., 2006, vol. 10, no. 1, pp. 59-61.
11. Schacker T.W., Bosch R.J., Bennett K., Pollard R., Robbins G.K, Collier A.C., Gulick R.M., Spritzler J., Mildvan D. Measurement of Na ve CD4 cells realiably predicts Potential for immune reconstitution in HIV. JAIDS, 2010, vol. 54, issue 1, pp. 59-62.
12. Schnizein-Bick C.T, Mandy F.F., O’Gorman M.R.G., Paxton H., Nicholson J.K., Hultin L.E., Gelman R.S., Wilkening C.L., Livnat D. Use of CD45 Gating in Three and Four-color Flow Cytometric Immunophenotyping: Guideline From The National Institute of Allergy and Infectious Diseases, Division of AIDS. Cytometry, 2002, vol. 50, no. 2, pp. 46-52.