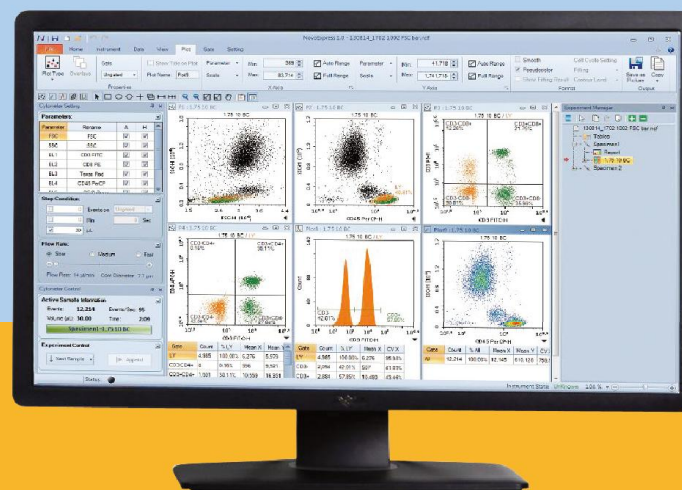




www.aceabio.com.cn
艾森生物（杭州）有限公司

艾森Novocyte™

流式细胞仪临床常规检测手册



ABOUT ACEA

艾森生物简介

2002年5月，艾森生物科学公司（ACEA Biosciences Inc.）
创建于美国生物硅谷——加利福尼亚州的圣地亚哥市。

艾森生物科学公司（ACEA Biosciences Inc.）成立于2002年，总部位于加利福尼亚州圣地亚哥市，是一家从事开发细胞分析尖端技术的全球性高科技生物公司。目前，公司全球市场已拥有1200多家用户，产品广泛应用于生物科学及药物研发等领域。自2008年，第一台实时无标记细胞分析系统xCELLigence上市以来，艾森不断开拓进取，于2013年10月正式发布了新一代智能化、个性化的ACEA NovoCyte™系列流式细胞仪，已广泛应用于科研及临床领域。

艾森生物美国总部



艾森生物（杭州）



淋巴细胞亚群检测

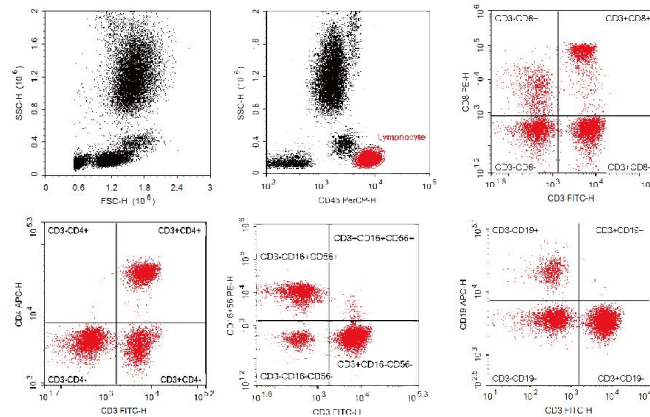
临床意义

机体的免疫系统是由免疫器官、免疫细胞（淋巴细胞、单核/巨噬细胞、粒细胞等）及其免疫分子组成的维持机体免疫生理平衡的防御性体系。免疫系统各组分保持正常水平是维持机体免疫功能相对稳定的保证。其中，淋巴细胞是构成机体免疫器官的基本单位，在免疫应答过程中起核心作用。正常情况下，各淋巴亚群（T淋巴细胞、B淋巴细胞、NK细胞）保持一定的数量和比例，相互作用和调节，共同维持机体的免疫功能。当不同的淋巴亚群的数量和比例发生异常改变时，机体就会产生一系列病理变化和免疫失调，导致疾病发生。对淋巴细胞及亚型所占百分数及绝对含量的检测，是检测机体免疫功能的重要指标，可以了解机体的免疫功能状态，对疾病的诊断及鉴别、预后判断都十分重要，也可以辅助诊断某些疾病（如自身免疫疾病、免疫缺陷病、恶性肿瘤、血液病、变态反应性疾病等），对机体的亚健康状态的诊断及发生疾病的风险评估，也具有重要意义。

检测原理

利用单克隆抗体与淋巴细胞表面的抗原结合，再配合多色荧光染料，即可以把不同功能的淋巴细胞亚群区分开来，得到各亚群的相对比例及绝对数量。最常检测的亚群包括T细胞（CD3+）、B细胞（CD19+）、NK细胞（CD16+56+）、辅助性T细胞（CD3+CD4+）和抑制性T细胞（CD3+CD8+）等。

流式参考图



应用四色抗体组合CD3FITC /CD8 PE/CD45 PerCP/CD4APC CD3FITC /CD16+CD56 PE/CD45 PerCP/CD19APC 进行多色淋巴亚群检测 分析总淋巴细胞(CD45+)、总T淋巴细胞（CD3+）、T辅助淋巴细胞（CD3+CD4+）、T抑制淋巴细胞(CD3+CD8+)、NK细胞（CD3-CD16+CD56+）、B细胞(CD3-CD19+)比例（%）及绝对浓度（个/ul）

应用科室

血液科 皮肤科 呼吸科 神经科 骨科 妇产科 儿科 肿瘤科 内科 风湿免疫科 感染科

参考文献

- 流式细胞术检测外周血淋巴细胞亚群指南.中华人民共和国卫生行业标准.2012.12.04.
- 吴丽娟.临床流式细胞学检验技术.北京：人民军医出版社，2010:78-84.
- Austin ED, Rock MT, Mosse CA,et al. T lymphocyte subset abnormalities in the blood and lung in pulmonary arterial hypertension.Respiratory Medicine. Respir Med. 2010 Mar;104(3):454-62.
- Sayed, S, Bakry R, El-Shazly M,et al.Effect of major burns on early and late activating markers of peripheral blood T lymphocytes. Ann Burns Fire Disasters. 2012 Mar 31;25(1):17-21.
- Yu QM, Yu CD, Ling ZQ.Elevated circulating CD19+ lymphocytes predict survival advantage in patients with gastric cancer. Asian Pac J Cancer Prev. 2012;13(5):2219-24.
- Koo KC, Shim DH, Yang CM,et al.Reduction of the CD16(-)CD56bright NK cell subset precedes NK cell dysfunction in prostate cancer. PLoS One. 2013 Nov 4;8(11):e78049.

淋巴细胞亚群检测

检测指标及收费标准

项目名称	抗体/标记	功能	检测结果	临床意义	正常参考值	
					百分比(%)	绝对数(个/ul)
总淋巴细胞(T/B/NK)	CD45+	免疫应答核心	增高	慢性淋巴细胞白血病、百日咳、传染性单核细胞增多症、麻疹、结核、传染性肝炎等	95-105	1530-3700
			降低	传染病急性期、放射病、细胞免疫缺陷等		
总T细胞	CD3+	调节细胞及体液免疫	增高	提示机体的T细胞免疫功能增强，见于重症肌无力、慢性活动性肝炎、器官移植排斥反应、T细胞白血病等	50-84	955-2860
			降低	提示机体的T细胞免疫功能减弱，见于艾滋病、恶性肿瘤、多发性骨髓瘤、某些白血病、应用免疫抑制药物、先天性细胞免疫缺陷、以及其他机体免疫功能处于相对较低的其他情况		
T辅助/诱导淋巴细胞	CD3+CD4+	介导细胞免疫应答、调节体液免疫应答	增高	提示机体存在细菌等病原微生物感染，主要见于各种细菌性感染疾病	27-51	550-1440
			降低	提示机体存在病毒等病内原微生物感染，艾滋病、严重联合免疫缺陷、胸腺发育不良、严重创伤、恶性肿瘤、以及应用免疫抑制剂等		
T抑制/毒性淋巴细胞	CD3+CD8+	分泌穿孔素和颗粒酶直接杀伤靶细胞；诱导靶细胞凋亡	增高	提示机体存在病毒等胞内寄生虫感染、主要见于HBV、CMV、EB病毒及结合杆菌感染等；自身免疫性疾病、慢性活动性肝炎等	15-44	320-1250
			降低	严重联合免疫缺陷、胸腺发育不良、严重创伤、糖尿病等		
T辅助/抑制淋巴细胞	CD3+CD4+/ CD3+CD8+	T辅助/抑制淋巴细胞调节免疫平衡	增高	CD4+增加或者CD8+减少所致，见于某些自身免疫性疾病、如SLE、多发性硬化、器官移植排斥等	0.71-2.78	0.64-2.85
			降低	CD4+减少或者CD8+增加所致，见于再生障碍性贫血、病毒感染如艾滋病、恶性肿瘤、结核病等		
B细胞	CD3-CD19+	产生抗体	增高	提示机体体液免疫功能被增强，见于各种细菌性感染、多发性骨髓瘤、淋巴瘤、艾滋病等	5-18	90-560
			降低	见于原发及继发性免疫功能低下、严重病毒性感染、使用免疫抑制剂等		
NK细胞	CD3-CD16+ CD56+	识别并杀伤病毒感染细胞	增高	病毒感染早期、骨髓移植后、习惯性流产等	7-40	150-1100
			降低	恶性肿瘤、特别是中晚期或伴转移的肿瘤、免疫缺陷及使用免疫抑制剂、某些白血病及白血病前期		

CD3FITC /CD8 PE/CD45 PerCP/CD4APC CD3FITC /CD16+CD56 PE/CD45 PerCP/CD19APC50元/CD分子标准，常规200元。

HLA-B27

临床意义

强直性脊柱炎（Ankylosing Spondylitis, AS）是脊柱及其附属组织的慢性进行性炎症疾病，属于脊柱关节病的一种亚型，主要累及骶髂关节、脊柱关节、椎旁软组织及四肢关节。

强直性脊柱炎早期以慢性双侧骶髂关节炎为特征；晚期骨突关节融合，韧带骨赘形成，脊柱韧带钙化，导致脊柱从颈到骶骨完全强直，早期诊断有助于早期治疗，防止致残。AS早期发病隐匿，症状多变，极易被误诊或漏诊，故应争取早期诊断，早期治疗。

我国AS患者的发病率为3‰，按13亿人口推算，大约有400余万人。由于中早期强直性脊柱炎确诊率比较低，实际发病人数应该高于400万人。

HLA-B27基因属于 I 型MHC基因，基本上表达在机体中所有含核的细胞上，尤其是淋巴细胞的表面有丰富的含量。早在1973年，人们就已发现HLA-B27抗原的表达与强直性脊椎炎有着高度相关性，超过90%的强直性脊椎炎患者其HLA-B27抗原表达为阳性，普通人群中仅5-10%的为阳性，而强直性脊椎炎由于其症状与许多疾病相似而难以确诊，因此HLA-B27的检测在病情的诊断中有着重要意义。HLA-B27阳性将显著增加正确诊断AS的机会，阴性则排除AS的可能性增加，为临床诊断和鉴别诊断提供了有力的支持。流式因其灵敏、准确、方便、经济等特点，成为检测HLA-B27的主流方法。

HLA-B27与多种疾病具有相关性，因此HLA-B27的检测在这些疾病的诊断中是一个非常有价值的指标。

疾病	HLA-B27阳性率	疾病	HLA-B27阳性率
强直性脊柱炎	90%	葡萄膜炎	40-50%
Reiter's 综合症	70-90%	溃疡性结肠炎伴有关节病	5-10%
银屑病性关节炎	50-60%		

检测原理

利用CD3标记T淋巴细胞，检测T淋巴细胞HLA-B27荧光强度，与标准微球比较，判断HLA-B27阳性/阴性。

应用科室

骨科 风湿免疫科

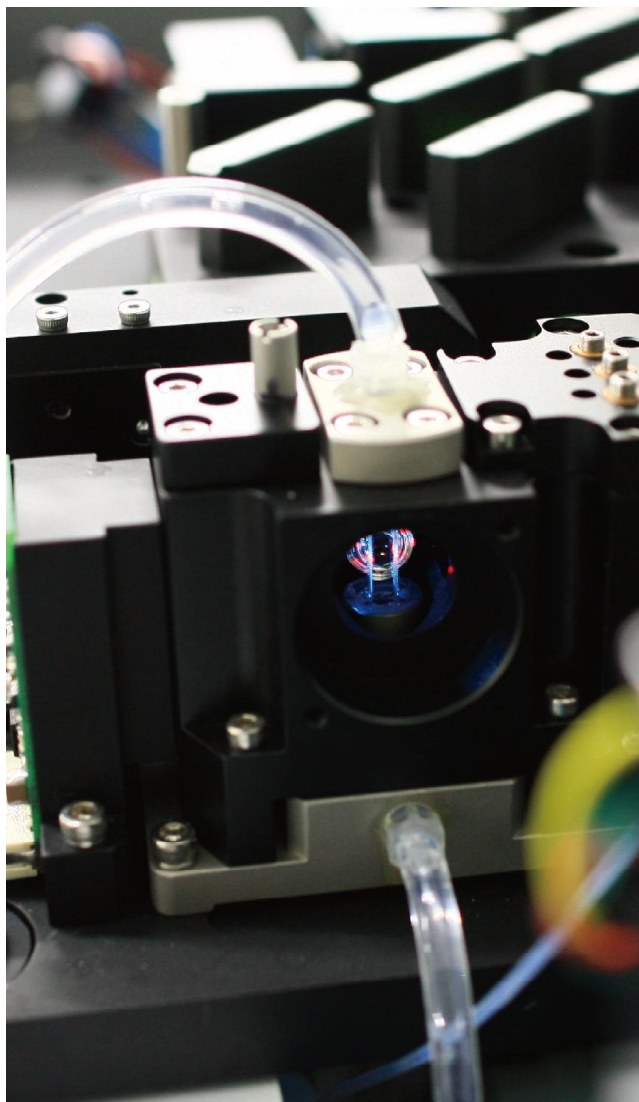
检测指标及收费标准

HLA-B27FITC /CD3PE，常规收费150元。

参考文献

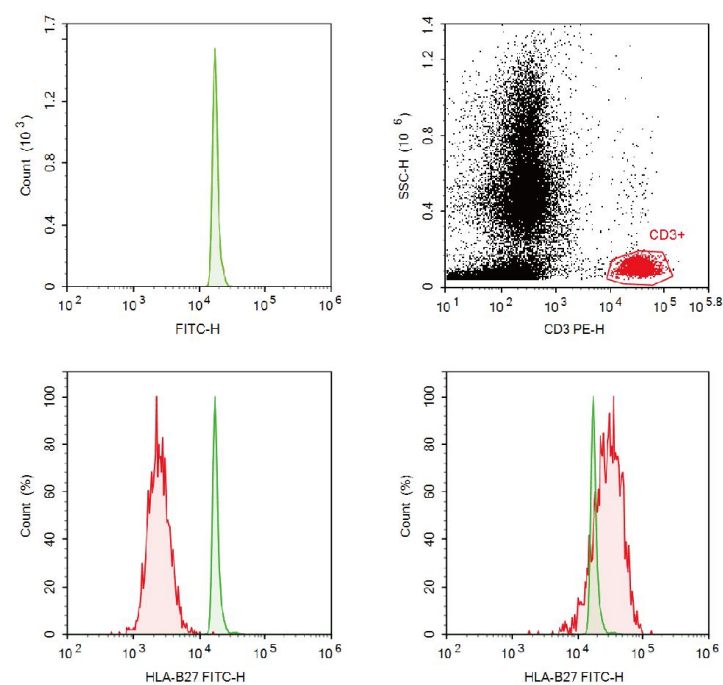
- López de Castro JA. HLA-B27 and the pathogenesis of spondyloarthropathies. Immunol Lett. 2007 Jan 15;108(1):27-33.
- Toussirost E, Wendling D. The immunogenetics of ankylosing spondylitis. Rev Med Interne. 2006 Oct;27(10):762-71.
- Dakwar E, Reddy J, Vale FL, et al. A review of the pathogenesis of ankylosing spondylitis. Neurosurg Focus. 2008;24(1):E2.
- Chatzikiriakidou A, Voulgari PV, Drosos AA. What is the role of HLA-B27 in spondyloarthropathies? Autoimmun Rev. 2011 Jun;10(8):464-8.
- 吴丽娟.临床流式细胞学检验技术.北京：人民军医出版社，2010:228-232.

HLA-B27



流式参考图

Clinical significance



运用HLA-B27检测试剂盒，检测比较标准微球FITC荧光强度中位值与样本T淋巴细胞（CD3+）HLA-B27-FITC的荧光强度中位值，后者高于前者，则样本为HLA-B27阳性；后者低于前者，则样本为HLA-B27阴性

PNH 阵发性睡眠性血红蛋白尿症

临床意义

阵发性睡眠性血红蛋白尿症(PNH) 是由于造血干细胞发生PIG-A基因突变，导致糖基磷脂酰肌醇锚(GPI)合成障碍，造成血细胞表面锚连蛋白的缺失，红细胞对补体敏感导致溶血。临床上表现与睡眠有关的、间歇发作的血红蛋白尿为特征，可伴有全血细胞减少或反复血栓形成。流式分析检测是诊断PNH的金标准。

检测原理

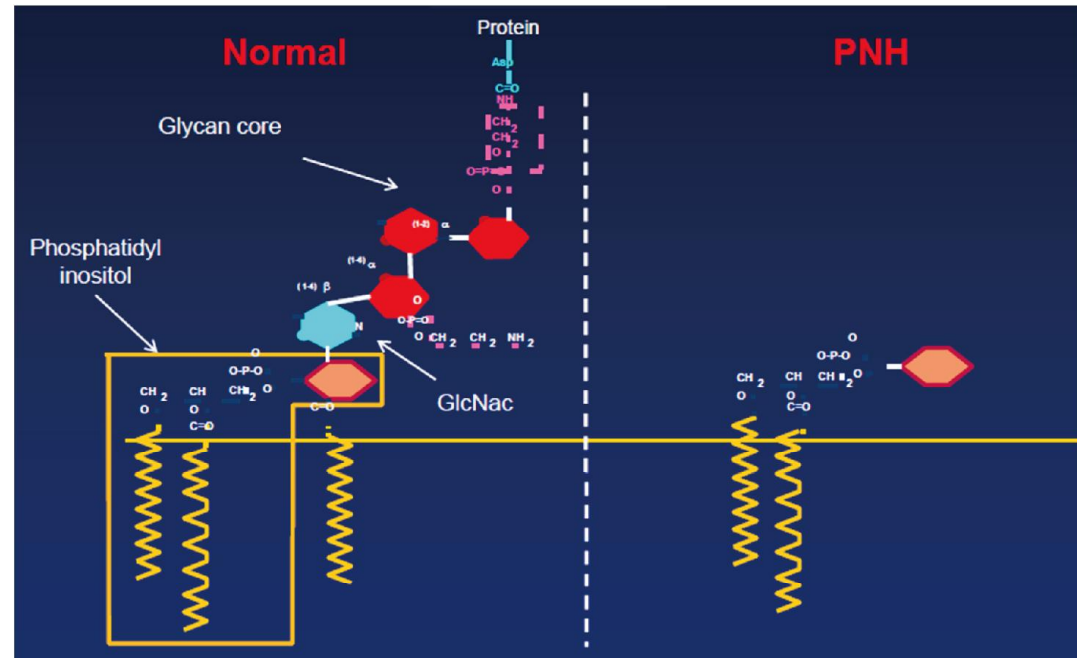
对PNH的流式检测，通常检测一系及以上细胞(红系和粒系)的2种 GPI锚连蛋白缺失，CD55和CD59。结果分为Ⅰ型正常表达，Ⅱ型部分缺失，Ⅲ型完全缺失。或者通过Flaer方法检测白细胞(粒细胞和单核细胞)，高灵敏度鉴定PNH克隆。

应用科室

血液科

检测指标及收费标准

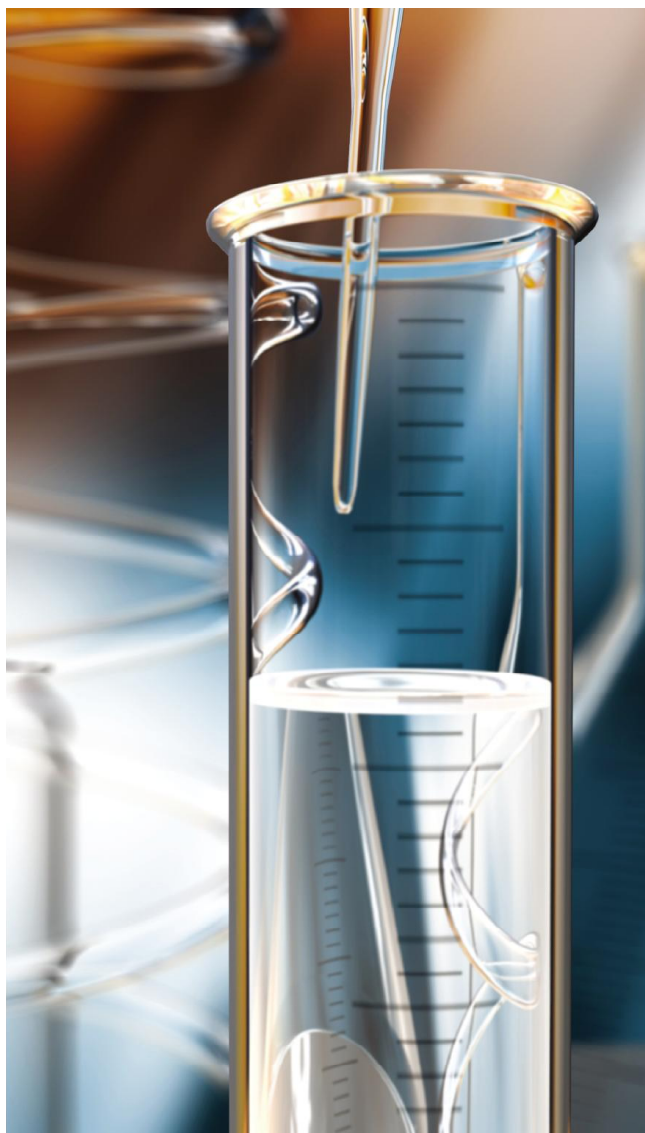
(CD45PerCP)/CD55PE/CD59FITC或者CD45PerCP
(CD33)/Flaer/CD14PE/CD24APC
常规收费280元。



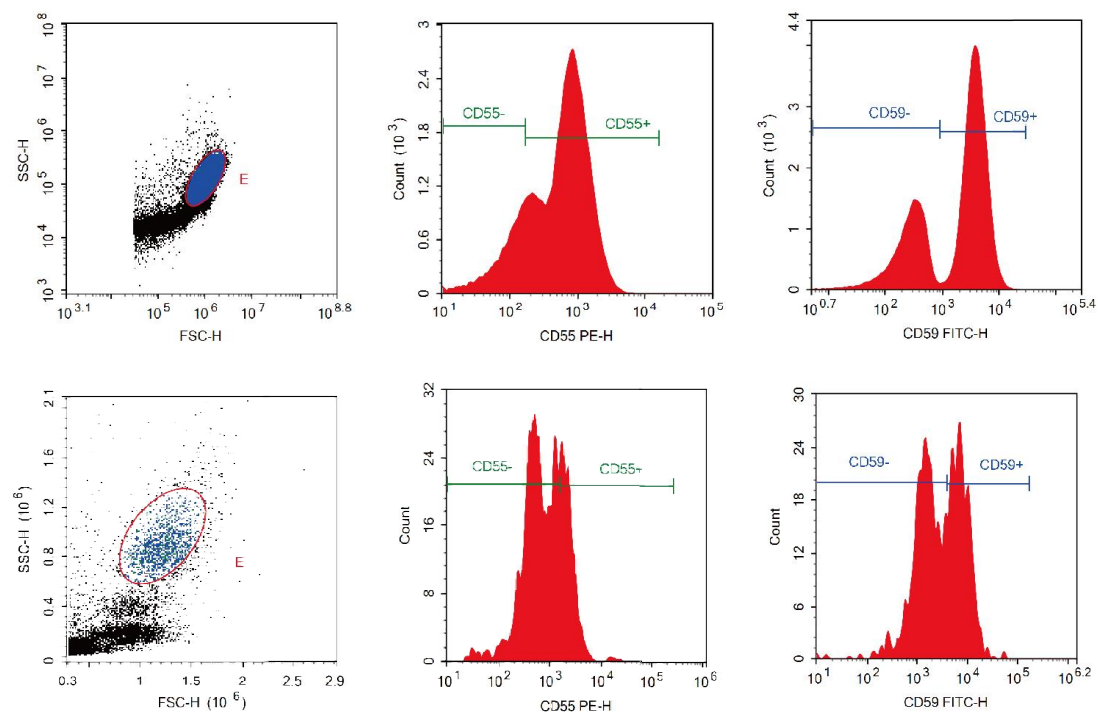
参考文献

- 刘艳荣.实用流式细胞技术-血液病篇.北京：北京大学医学出版社，2013:289-295.
- Höchsmann B, Rojewski M, Schrezenmeier H. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH): higher sensitivity and validity in diagnosis and serial monitoring by flow cytometric analysis of reticulocytes. Ann Hematol, 2011(90):887-899.
- Sutherland DR, Kuek N, Azcona-Olivera J, et al. Use of a FLAER-Based WBC Assay in the Primary Screening of PNH Clones. Am J Clin Pathol. 2009 Oct;132(4):564-72.
- Sutherland DR, Kuek N, Davidson J, et al. Diagnosing PNH with FLAER and Multiparameter Flow Cytometry. Cytometry B Clin Cytom. 2007 May;72(3):167-77.
- Madkaikar M, Gupta M, Jijina F, et al. Paroxysmal nocturnal haemoglobinuria: diagnostic tests, advantages, & limitations. Eur J Haematol. 2009 Dec 1;83(6):503-11.

PNH 阵发性睡眠性 血红蛋白尿症



流式参考图



PNH阳性 (粒系)

FSC/SSC圈门红细胞和粒细胞，分别检测两系细胞CD55和CD59表达，与正常对照相比，根据CD55、CD59表达缺失与否判断PNH类别

造血干细胞检测

临床意义

造血干细胞 (Hematopoietics Stem Cell , HSC) 是一类具有高度自我维持能力，能够分化为多向祖细胞的特殊造血细胞，并且能够源源不断进一步分化为各种血细胞，成为体内各种血细胞的唯一来源。造血干细胞移植 (Hematopoietics Stem Cell Transplantation , HSCT) 是恶性肿瘤血液病有效乃至唯一的根治手段。干细胞计数，对剂量有要求的干细胞移植方案十分重要，主要体现在外周血造血干细胞动员及分离白细胞过程中，如通过计数判断动员是否成功、最佳提取时间以及干细胞的数量是否足够等。用流式细胞术来进行造血干细胞计数为鉴定和计数造血干细胞提供了一个快速、准确的方法。目前公认的CD34+细胞为造血干细胞，CD34在骨髓和外周血的未成熟造血细胞和所有具有造血潜能的集落形成细胞上表达，包括单核和多能祖细胞。在正常骨髓单个核细胞的相对含量是1-4%，其在外周血中比例小于0.1%。

检测原理

采用ISHAGE方案，通过FSC、SSC、CD45和CD34设门，找出CD45弱阳性、CD34+ 阳性造血细胞群，在NovoCyte流式细胞仪上可实现无需微球，采用体积法实现造血干细胞准确计数。

应用科室

血液科 肿瘤科 移植免疫科

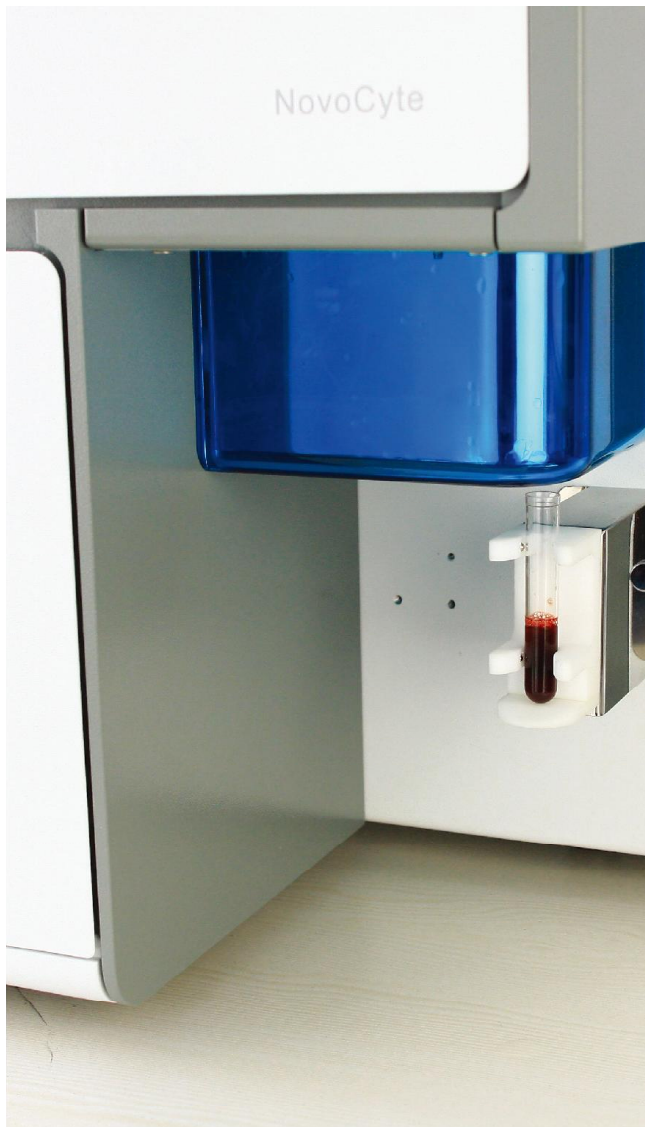
检测指标及收费标准

CD34PE /CD45 PerCP，常规收费200元。

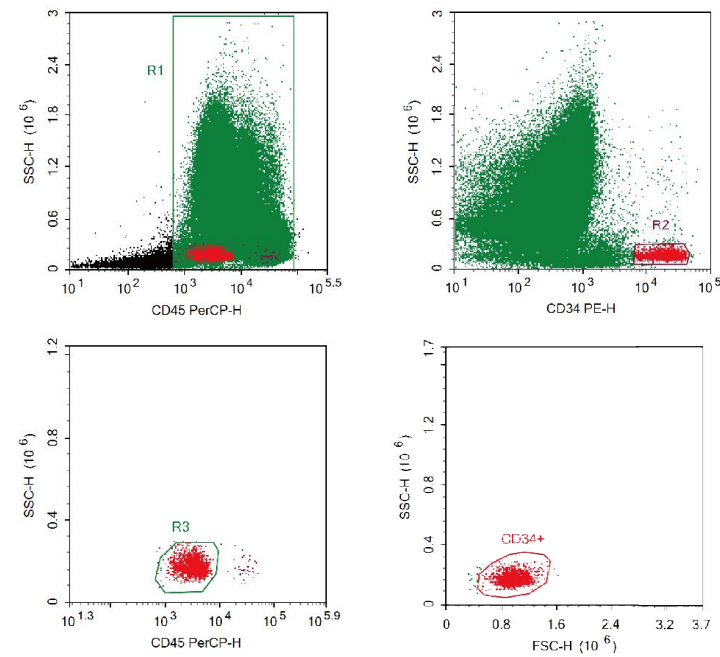
参考文献

- Sutherland DR, Anderson L, Keeney M,et al.The ISHAGE guidelines for CD34+ cell determination by flow cytometry. International Society of Hematotherapy and Graft Engineering. J Hematother. 1996 Jun;5(3):213-26.
- Keeney M, Chin-Yee I, Weir K, et al. Single platform flow cytometric absolute CD34+ cell counts based on the ISHAGE guidelines. International Society of Hematotherapy and Graft Engineering. Cytometry. 1998 Apr 15;34(2):61-70.
- Gratama JW, Orfao A, Barnett D,et al. Flow Cytometric Enumeration of CD34+ Hematopoietic Stem and Progenitor Cells. Cytometry. 1998 Jun 15;34(3):128-42.
- Gajkowska A, Oldak T, Jastrzevska M,et al.Flowcytometric enumeration of CD34+ hematopoietic stem and progenitor cells in leukapheresis product and bone marrow for clinical transplantation: a comparison of three methods. Folia Histochem Cytobiol. 2006;44(1):53-60.
- 苏炳男，彭明婷.流式细胞仪计数造血干细胞的影响因素.实验与检验医学.2012年6月，第30卷，第3期:213-215.

造血干细胞检测



流式参考图



CD34+造血干细胞

通过FSC、SSC、CD45和CD34圈门，检测CD45弱阳性、CD34阳性造血细胞群比例（%）及绝对浓度（个/uI）

DNA倍体检测

临床意义

DNA倍体检测在肿瘤早期诊断和预后判断中起应用广泛。在肿瘤早期诊断及鉴别中，DNA异倍体的出现是癌变的一个重要标志，有助于癌变的早期诊断以及选择适合的治疗方法；淋巴瘤在病理学不能作出诊断前，DNA倍体分析可为其提供准确的诊断信息；形态学表现为良性的肿瘤，出现DNA非整倍体，提示可能有恶变的可能，DI值可判断间叶组织肿瘤良恶性的辅助指标。DNA含量和DNA倍体在预后判断中，通常认为非整倍体的肿瘤恶性程度高，预后差；二倍体或者接近二倍体预后好；反应肿瘤增殖状态的S期比例也作为判断预后的指标。

检测原理

通过核酸染料PI标记DNA，流式分析细胞各个时期的分布状态，计算出G0/G1期、S期、G2/M期，了解细胞的倍体状况及增殖能力。正常细胞具有较恒定的DNA含量，当细胞发生癌变，其DNA常常发生改变。

应用科室

肿瘤科 血液科

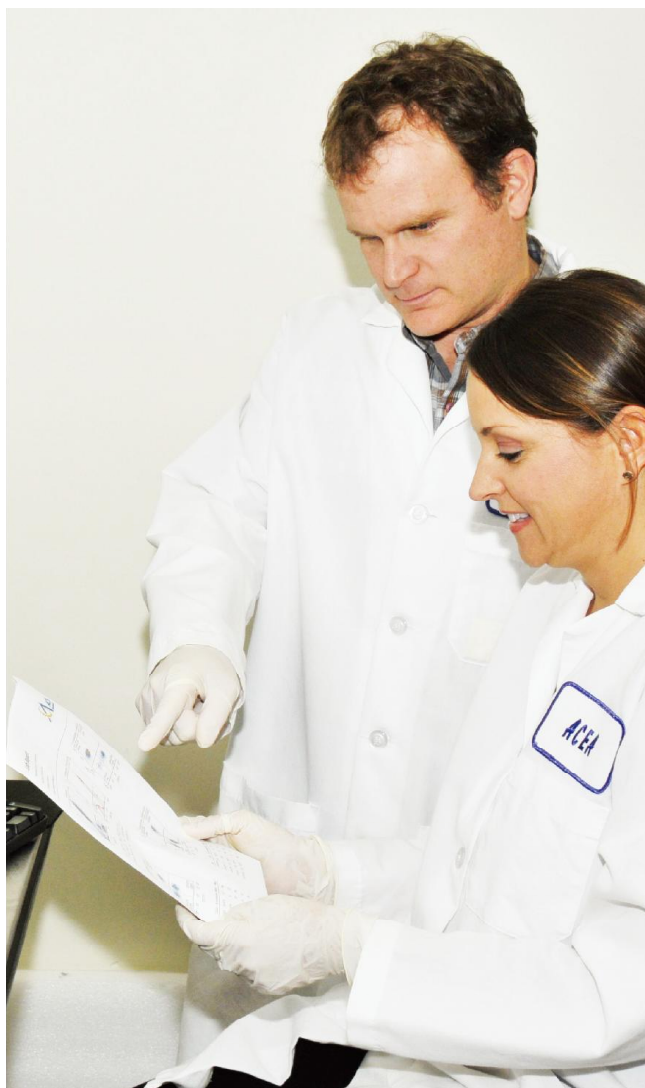
检测指标及收费标准

细胞周期试剂盒，常规收费180元。

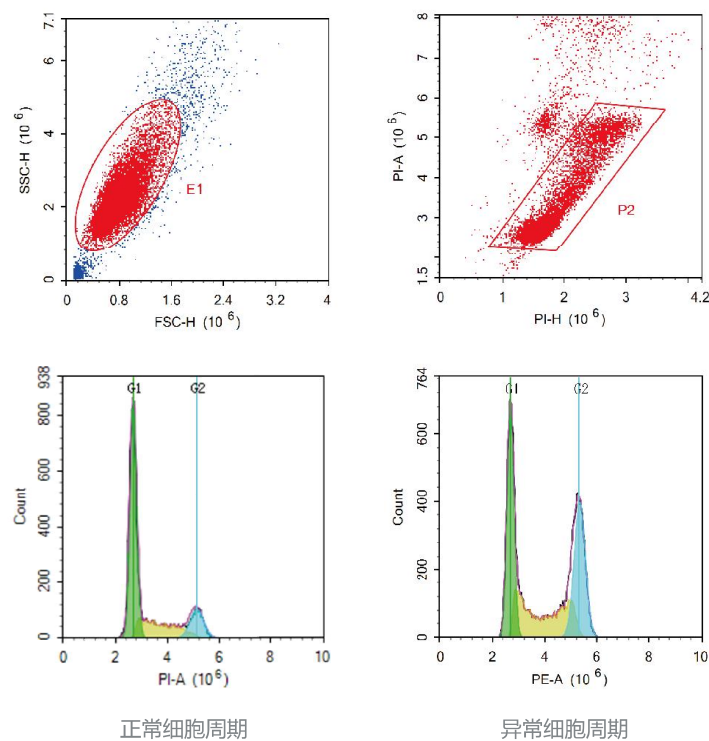
参考文献

- Pradhan M, Davidson B, Abeler VM,et al .DNA ploidy may be a prognostic marker in stage I and II serous adenocarcinoma of the endometrium. Virchows Arch. 2012 Sep;461(3):291-8.
- Balogh Z, Szemlaky Z, Szendroi M,et al.Correlation between DNA ploidy, metaphase high-resolution comparative genomic hybridization results and clinical outcome of synovial sarcoma. Diagn Pathol. 2011 Nov 3;6:107.
- Kenney B, Zieske A, Rinder H,et al.DNA ploidy analysis as an adjunct for the detection of relapse in B-lineage acute lymphoblastic leukemia. Leuk Lymphoma. 2008 Jan;49(1):42-8.
- Kildal W, Abeler VM, Kristensen GB,et al.The prognostic value of DNA ploidy in a total population of uterine sarcomas. Ann Oncol. 2009 Jun;20(6):1037-41.
- Fosså SD, Nesland JM, Pettersen EO, et al. DNA ploidy in primary testicular cancer. Br J Cancer. 1991 Nov;64(5):948-952.

DNA倍体检测



流式参考图



细胞进行PI染色，FCS-H/SSC-H对细胞群圈门，PI-H/PI-A去粘连体，运用NovoExpress™细胞周期拟合功能，自动计算细胞周期各个时期比例，判断DNA倍体正常或异常

白血病/淋巴瘤免疫分型

临床意义

白血病是一种高度异质性的造血系统肿瘤，主要累及造血干细胞及造血祖细胞，由于各种疾病原因导致造血干/祖细胞不能正常分化成熟，阻滞于发育的某个阶段，在骨髓、外周血中出现大量幼稚或者不完全成熟髓系或者淋巴系细胞。

骨髓血细胞是形态学分型的基础，流式细胞术白血病分型是对形态学分型的重要补充和进一步深化，国际白血病MIC分型协作组认为免疫分型对每一例急性白血病都是必不可少的，对于下列情况，意义更大：1) 用形态学和细胞化学染色不能肯定细胞来源的白血病。2) 形态学为急性淋巴细胞白血病(ALL)或急性未分化白血病(AUL)但缺乏特异性细胞抗原标记。3) 混合型白血病。4) 部分髓系白血病。5) 淋巴细胞白血病。6) 微小残留白血病。

淋巴瘤起源于淋巴结和淋巴组织，其发生大多数与免疫应答过程中淋巴细胞增殖分化产生的某种淋巴细胞恶变有关，是免疫系统的恶性肿瘤。

目前已知淋巴瘤有近70种病理类型，可分为霍奇金淋巴瘤和非霍奇金淋巴瘤。在我国，非霍奇金淋巴瘤占有淋巴瘤病理的90%左右。根据WHO分型标准，所有非霍奇金淋巴瘤都具有独特的基于形态学、免疫学分型、遗传学及临床表现的临床病理学特征。使用流式可以同时检测多种细胞表面抗原，用极少量样本分析抗原的表达，与形态学及遗传学互为补充，获得准确的检测信息。

检测原理

正常造血细胞发育不同阶段的抗原表达是受一系列基因精密调控的，在一定分化阶段哪些抗原表达及抗原表达量的多少存在明显的规律性。白血病是造血系统的恶性肿瘤，是造血系统某一系或者多系细胞分化阻滞于某一阶段，出现恶性增殖性克隆，可根据该恶性克隆细胞群的抗原表达谱对其进行系别和分化阶段的鉴定。流式细胞术白血病免疫分型是利用荧光素标记的单克隆抗体作为探针，多参数分析白血病细胞的细胞膜和细胞浆或者细胞核的免疫表型，以此鉴别白血病细胞所属细胞系别及分化程度。

流式细胞术结合荧光素标记的单克隆抗体技术，可通过检测目标细胞群细胞大小，颗粒度以及抗原表达等来对淋巴瘤进行免疫分型。

应用科室

血液科 病理科

参考文献

- Morphologic, immunologic, and cytogenetic (MIC) working classification of acute lymphoblastic leukemias. Report of the workshop held in Leuven, Belgium, April 22-23, 1985. First MIC Cooperative Study Group. Cancer Genet Cytogenet. 1986 Nov;23(3):189-97.
- Zerbini MCN, Soares FA, Velloso EDRP, et al. World Health Organization Classification of tumors of hematopoietic and lymphoid tissues, 4th edition, 2008 -major changes from the 3rd edition, 2001. Rev Assoc Med Bras 2011; 57(1):66-73.
- Saxena R, Anand H. Flow cytometry in acute leukemia. Indian J Hematol Blood Transfus. Dec 2008; 24(4): 146-150.
- Peters JM, Ansari MQ. Multiparameter Flow Cytometry in the Diagnosis and Management of Acute Leukemia. Arch Pathol Lab Med. 2011 Jan;135(1):44-54.
- 刘艳荣.实用流式细胞技术-血液病篇.北京：北京大学医学出版社，2013:67-73.

白血病/淋巴瘤免疫分型

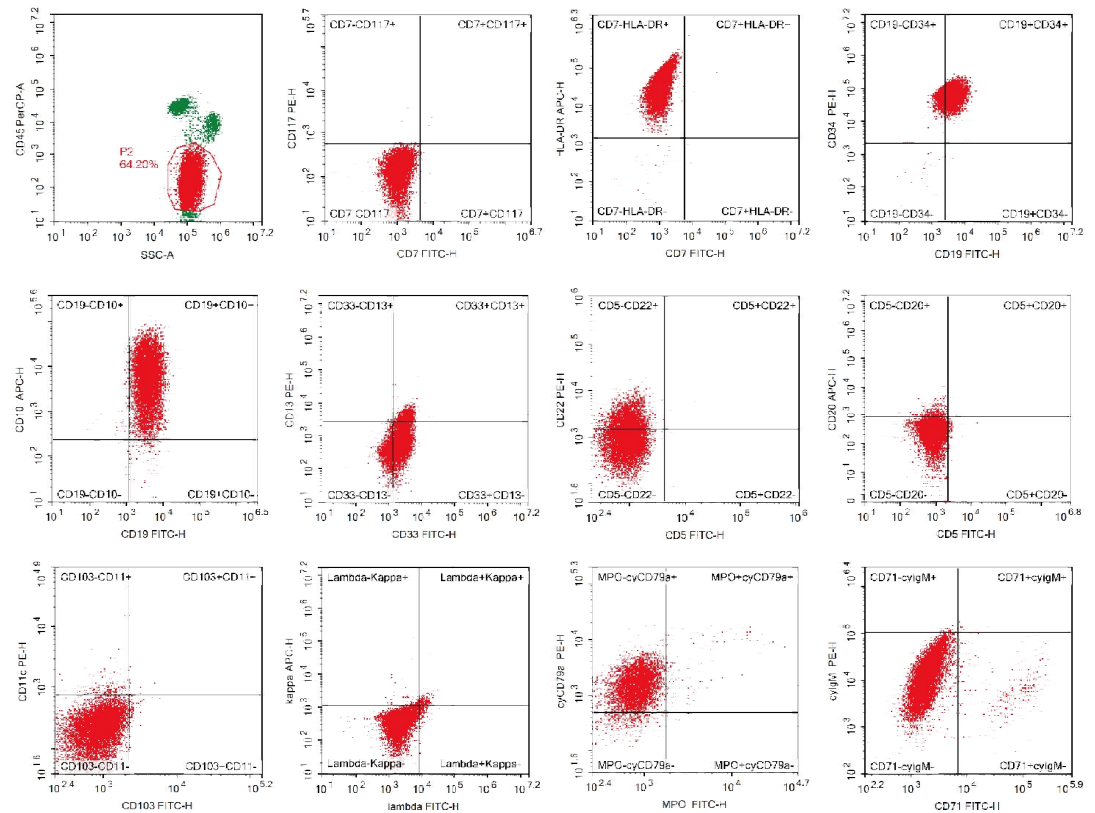
白血病免疫分型4色方案

FITC	PE	PerCP/PE-Cy7	APC
cCD3	cMPO	CD45	cCD79a
cKappa	cLambda	CD45	CD20
CD2	CD7	CD45	CD5
CD3	CD8	CD45	CD4
CD15	CD13	CD45	CD33
CD14	CD64	CD45	CD38
CD34	HLA-DR	CD45	CD117
CD41	Gly-A	CD45	CD56
CD10	CD22	CD45	CD19
IgG1	IgG1	CD45	IgG1

淋巴瘤免疫分型4色方案

FITC	PE	PerCP/PE-Cy7	APC
CD4	CD8	CD45	CD3
TCR $\alpha\beta$	TCR $\gamma\delta$	CD45	CD5
CD2	CD7	CD45	CD1a
CD57	CD56	CD45	CD11c
Kappa	Lambda	CD45	CD19
CD20	CD10	CD45	CD5
FMC7	CD23	CD45	CD25
IgG1	IgG1	CD45	IgG1

流式参考图



B-ALL

通过CD45/SSC圈门，幼稚细胞群P2，占有核细胞比例为64.2%，表达HLA-DR、CD19、CD10、cCD79a、CD34，部分表达CD22、CD33、CD13，不表达CD7、CD117、CD5、CD20、CD103、CD11c、CD71、cyIgM

白血病微小残留检测 (MRD)

艾森Novocyte™ 流式细胞仪临床常规检测

临床意义

目前由于多种化疗药的联合应用，多数白血病患者可以获得形态学的完全缓解，即患者的骨髓中幼稚细胞小于5%，外周血细胞达到正常水平。但仍有相当多的患者复发，复发的主要原因是患者体内存在微量的形态学难以辨认的残存白血病细胞。检测白血病微小残留有利于预测白血病的复发和判断预后、危险度精确分型和调整治疗方案，有利于了解机体对治疗的反应，较早的发现白血病细胞是否耐药，并以此指导临床选用更敏感、更具杀伤力的治疗措施。近年来研究表明，当机体白血病细胞低于 10^{-6} 时，机体有可能依靠自身免疫机制清除残留的白血病细胞。意味着白血病MRD检测技术敏感度需要达到 10^{-4} ，即10000个正常细胞中可以检出1个白血病细胞，只有流式和PCR技术可以达到要求。流式因其简便快速，直接定量以及能够区分活细胞和细胞碎片的优势，在MRD检测中广泛应用。

检测原理

应用单克隆抗体组合方案，根据白血病残留患者某一系列别细胞抗原表达与正常人该系列抗原表达相对比，找出残留白血病细胞进行分析。

应用科室

肿瘤科 血液科

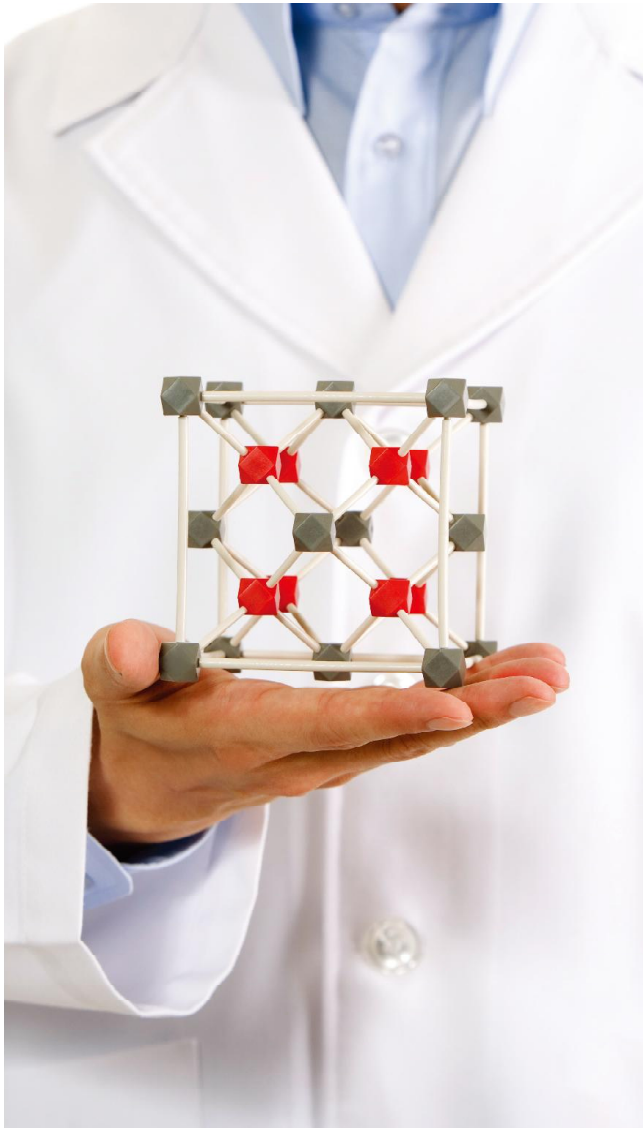
检测方案及收费标准

	FITC	PE	PerCP	APC
AML	CD7	CD34	CD45	CD117
	CD14	CD64	CD45	HLA-DR
	CD7	CD56	CD45	CD19
	CD13	CD33	CD45	CD11b
B-ALL	CD10	CD20	CD45	CD19
	CD38	CD34	CD45	CD19
	CD34	CD22	CD45	CD19
	cyTDT	CD10	CD45	CD19
T-ALL	CD7	CD5	CD45	CD3
	CD7	CD8	CD45	CD4
	CD7	CD2	CD45	CD3
	CD7	CD34	CD45	CD38
	cyTDT	CD7	CD45	CD3

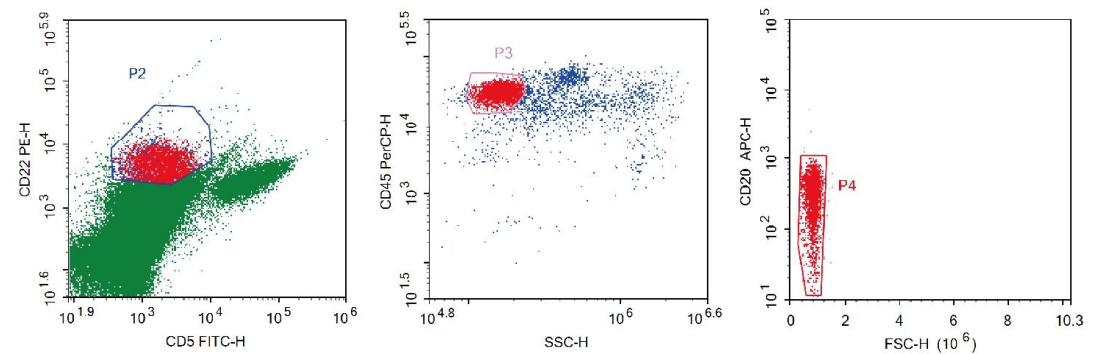
常规收费560元。

白血病微小残留检测 (MRD)

www.aceabio.com.cn



流式参考图



通过MRD检测方案，检测相应系别细胞抗原表达情况，对白血病微小残留病灶细胞进行分析

参考文献

- Dworzak MN, Fröschl G, Printz D, et al. Prognostic significance and modalities of flow cytometric minimal residual disease detection in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. 2002 Mar 15;99(6):1952-8.
- Weng XQ, Shen Y, Sheng Y, et al. Prognostic significance of monitoring leukemia-associated immunophenotypes by eight-color flow cytometry in adult B-acute lymphoblastic leukemia. *Blood Cancer J*. 2013 Aug 16;3:e133.
- Bar M, Wood BL, Radich JP, et al. Impact of Minimal Residual Disease, Detected by Flow Cytometry, on Outcome of Myeloablative Hematopoietic Cell Transplantation for Acute Lymphoblastic Leukemia. *Leuk Res Treatment*. 2014;2014:421723.
- Malec M, Björklund E, Söderhäll S, et al. Flow cytometry and allele-specific oligonucleotide PCR are equally effective in detection of minimal residual disease in ALL. *Leukemia*. 2001 May;15(5):716-27.
- Irving J, Jesson J, Virgo P, et al. Establishment and validation of a standard protocol for the detection of minimal residual disease in B lineage childhood acute lymphoblastic leukemia by flow cytometry in a multi-center setting. *Haematologica*. 2009 Jun;94(6):870-4.

CD4+绝对计数

临床意义

HIV侵入人体后主要攻击一种表达CD4抗原的淋巴细胞（辅助性T淋巴细胞）。这种细胞是免疫系统的基本组成部分，HIV通过大量、不断地复制与释放，导致CD4+T淋巴细胞下降，感染者免疫功能遭到严重破坏，造成免疫缺陷。人体感染HIV后，CD4+T细胞的数量与功能的降低是引起人体免疫功能缺陷的主要原因。临床上表现为多种机会性感染与肿瘤。CD4+淋巴细胞绝对计数在艾滋病临床诊断与治疗上具有极大意义，CD4+细胞绝对计数可辅助HIV监控治疗，人体感染艾滋病病毒后，体内CD4T淋巴细胞的数量可以反映感染者的身体状况。同样，根据感染者的CD4计数每年平均下降50-100个/uI的规律，可以粗略判定感染者的感染时间长短或评估药物治疗的效果。应用流式细胞仪检测HIV感染者和AIDS患者的T细胞亚群不仅安全、准确、方便、快速，而且其研究结果与临床评价的相关性很好，这些优点必将使它在HIV感染的研究中发挥出更大的作用。

检测指标及收费标准

CD3FITC /CD8 PE/CD45 PerCP/CD4APC，50元/CD分子标准，常规收费200元。

应用科室

检验科 疾控中心 性艾中心

检测原理

传统的流式细胞术完成绝对计数时需要借助耗材绝对计数管，原理是管内含有已知数量的微球，且样本体积固定，因此可根据颗粒数量计算体积，从而推算出样本的浓度。

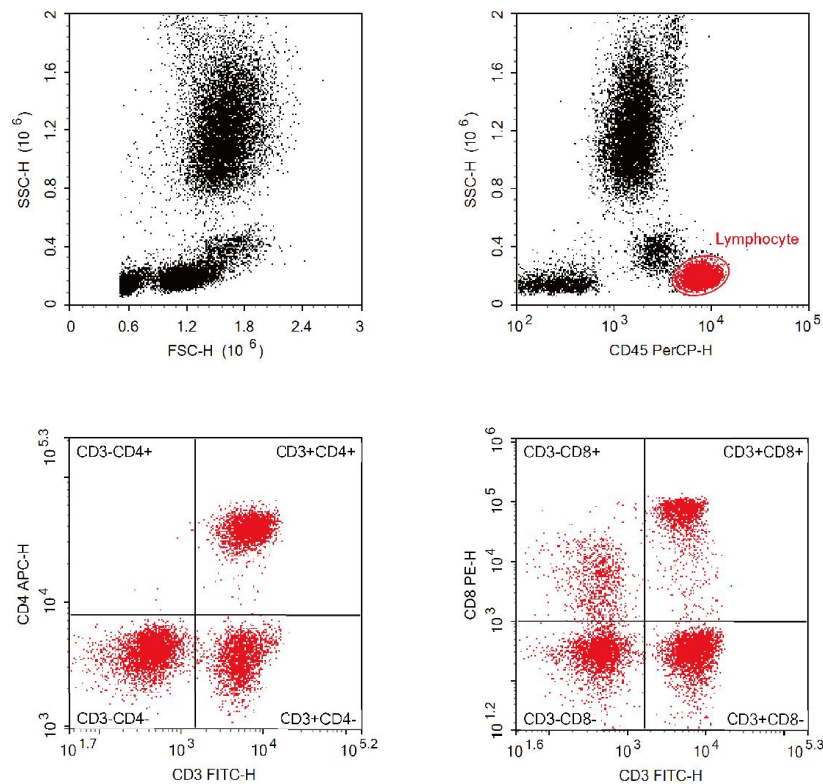
NovoCyte™流式细胞仪采用高精度注射器吸取样本，样本推入流动室，进行检测。该进样方式在进行样本细胞数量检测的时候，同时精确控制样本体积量，通过采集到的细胞数目、样本体积、总体积、绝对数目单位计算得到单位体积内特定细胞的总数： $Abs. Count = Count / Ve / Df / Abs.Unit$ 。其中Count是群的事件数目，Ve是实验样本体积，Df是稀释比例，Abs. Unit是绝对数目单位，以上参数可在软件中设置。样本通过T淋巴细胞亚群检测抗体染色后，流式上机检测，软件自动计算出CD4+T淋巴细胞的比例和绝对浓度，并给出报告。

参考文献

- Min, K.W., Pathology of acquired immunodeficiency syndrome. J Korean Med Sci, 1997. 12(3): p. 171-84.
- Marchetti, G., C. Tincati, and G. Silvestri, Microbial translocation in the pathogenesis of HIV infection and AIDS. Clin Microbiol Rev, 2013. 26(1): p. 2-18.
- Paintsil E, Ghebremichael M, Romano S, et al. Absolute CD4+ T-Lymphocyte Count as a Surrogate Marker of Pediatric HIV Disease Progression. Pediatr Infect Dis J. Jul 2008; 27(7): 629-635.
- Pan X, Baldauf HM, Keppler OT, et al. Restrictions to HIV-1 replication in resting CD4+ T lymphocytes. Cell Res. 2013 Jul;23(7):876-85.
- Koyalta D, Jenabian MA, Nadjiouroum N, et al. Single-platform, volumetric, CD45-assisted pan-leucogating flow cytometry for CD4 T lymphocytes monitoring of HIV infection according to the WHO recommendations for resource-constrained settings. BMC Res Notes. 2013 Apr 30;6:169.

CD4+绝对计数

流式参考图



Gate	Count	Abs. Count	% Lymphocyte
Lymphocyte	8,562	1,745	100.00%
CD3-CD4+	7	1.43	0.08%
CD3+CD4+	2,852	581	33.31%
CD3-CD4-	3,569	727	41.68%
CD3+CD4-	2,134	435	24.92%
Lymphocyte	8,562	1,745	100.00%
CD3-CD8+	949	193	11.08%
CD3+CD8+	1,934	394	22.59%
CD3-CD8-	2,645	539	30.89%
CD3+CD8-	3,034	618	35.44%

应用四色抗体组合CD3FITC /CD8 PE/CD45 PerCP/CD4APC 进行多色T淋巴亚群检测 分析T辅助淋巴细胞(CD3+CD4+)、T抑制淋巴细胞(CD3+CD8+)比例(%)及绝对浓度(个/ul)



流式细胞技术在生殖中心应用

艾森Novocyte™流式细胞仪临床常规检测

临床意义

最新的世界卫生组织统计数据显示，在已婚夫妇中，非意愿性不孕不育的平均发生率为7%-46%，并呈逐年增加的趋势。随着我国工业化程度的提高，环境污染的逐渐加重，人精神压力的不断增大，不育患者必然会逐步增加。因此，如何能够对不育病因做出合理、准确的诊断，选择到合适的助孕手段，具有极大的现实意义。

传统的精液常规分析作为男性生育力的基本指标，是评估男性生育力的重要和首要的实验室检测。但单纯依靠精液常规分析的结果来判断男性不育患者的真正原因和预测男性生育状况仍然是不完全准确的。

随着男科学研究的深入，精子评估已由传统的精液常规分析向细胞、分子水平深入发展。荧光染料与流式细胞术（Flow Cytometer, FCM）相结合，可在生物化学，超微结构和功能水平等多个方面进行精子功能与质量分析FCM在哺乳动物精子研究中发挥着重要作用：通过分析精细胞增殖周期研究精子的发生过程；还可根据X、Y精子DNA含量的差异进行精子性别鉴定，即精子分选；检测精液质量。流式细胞仪为精子功能实验提供了快速、客观、多指标、大通量的检测手段，弥补了传统方法的缺陷，成为一种检测精液质量的新平台。检测内容包括：精子凋亡检测，精子存活率及质膜完整性检测，精子顶体完整性检测，精子染色质结构完整性检测，精子线粒体功能与质量检测，精子活性氧测定，封闭抗体（Blocking Antibody，BA）流式检测等。

精子染色质结构完整性检测结果参考范围及相关临床意义

项目	单位	碎片率正常	小于10%	正常范围
精子DNA碎片率（DFI）	%	碎片率临界	10%-15%	表示男性生育能力有降低的趋势，无论是自然妊娠还是IUI助孕有成功率降低的可能。
		碎片率异常	大于15%	表示男性生育能力降低，无论是自然妊娠还是IUI助孕有成功率都很低，且IVF/ICSI助孕有流产风险增加的可能。
高DNA可染色性（HDS）	%	HDS正常	小于15%	表示不成熟精子比例正常
		HDS异常	大于15%	生育能力降低，可能需要采取助孕手段。

参考文献

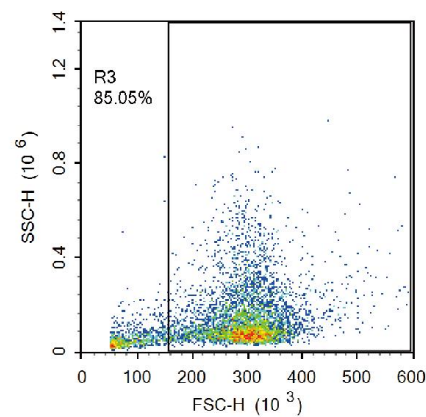
- Lamb DJ. Semen analysis in 21st century medicine: the need for sperm function testing. Asian J Androl. 2010;12:64–70.
- Robles V, Martínez-Pastor F.Flow Cytometric Methods for Sperm Assessment. Methods Mol Biol. 2013; 927:175-86.
- Martínez-Pastor F, Mata-Campuzano M, Alvarez-Rodríguez M,et al.Probes and techniques for sperm evaluation by flow cytometry. Reprod Domest Anim. 2010 Jun;45 Suppl 2:67-78
- Linhová M, Branská B, Patáková P,et al.Rapid flow cytometric method for viability determination of solventogenic clostridia. Folia Microbiol (Praha). 2012 Jul;57(4):307-11.

检测精子染色质结构完整性

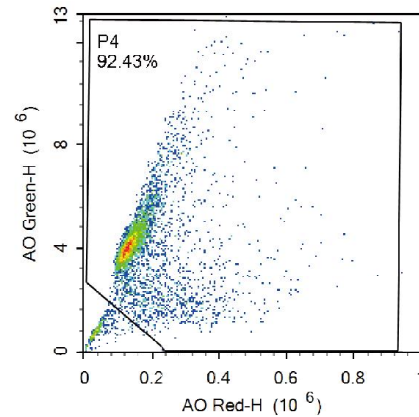
精子染色质结构完整性对于精确传递遗传物质至关重要。精子DNA损伤能够影响精子的受精能力、受精卵的分裂、胚胎的发育以及子代健康，已有不少学者将其作为一个新的评价精液质量和预测生育能力的指标。广为使用的权威方法是精子染色质结构检测（sperm chromatin structure assay, SCSA）。其检测原理在于受损的DNA在酸作用下变性成单链，吖啶橙（acridine orange, AO）与双链DNA结合发出绿色荧光，与单链DNA结合发出红或黄色荧光，然后通过配有专用软件的流式细胞仪得出相关参数。

计算含有断裂DNA的精子细胞的百分比(即%DFI或COMPat参数)。

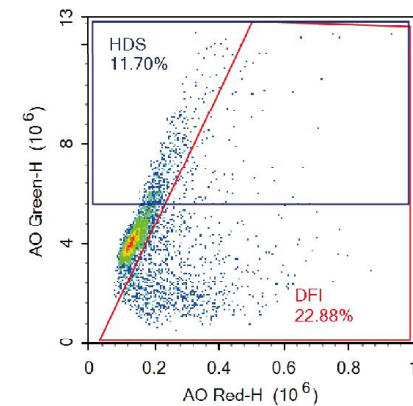
受损精子核中的染色质经酸处理后成单链，与染料吖啶橙结合发红色或黄色荧光；正常精子核中的染色质能保持完整的双链结构，与吖啶橙结合发绿色荧光。精液样品在经过变性处理和染色后，若红光（值）比例增高，就说明精子核完整性受损程度增加。吖啶橙的激发峰为492nm，发射峰为530nm和640nm。DFI指DNA受损的精子占总精子的百分数，反映DNA受损的精子。HDS指高可染性的精子占总精子的百分数，反映核未完全缩合的不成熟精子。



Gate	Count	%All	Mean X	Mean Y	CV X	CV Y
All	6,014	100.00%	269,970	141,825	36.41%	98.44%
R3	5,115	85.05%	297,717	153,207	36.41%	82.71%



Gate	Count	%P4	Mean X	Mean Y	CV X	CV Y
All	5,115	100.00%	170,607	3,975,481	62.71%	47.11%
P4	4,428	92.43%	176,884	4,162,161	50.84%	21.92%



Gate	Count	%P4	Mean X	Mean Y	CV X	CV Y
P4	4,729	100.00%	176,884	4,162,161	50.84%	37.12%
DFI	1,082	22.88%	276,934	3,040,187	45.20%	61.77%
HDS	553	11.70%	266,603	7,214,025	38.09%	21.92%

通过FSC/SSC、FITC/PerCP圈门染色精子细胞群，检测FITC/PerCP散点图绿光(FITC)和黄/红光（PerCP）区域精子比例，统计出DFI和HDS

中性粒细胞CD64

临床意义

CD64是一个高亲和力FC受体（RCyRI），较稳定的表达于巨噬细胞、单核细胞和嗜酸性粒细胞，在未激活的中性粒细胞上低表达。当中性粒细胞受到微生物感染刺激时，其表达量会急剧上升，一般在受到刺激4-6小时，CD64表达增高。检测中性粒细胞CD64表达，在检测细菌感染和脓毒症中，与传统方法如CRP、白血球分类计数、微生物血培养相比，具有高敏性和特异性，其敏感性大于90%、特异性90-100%，具有快速简便等特点，并且可区分细胞感染和病毒感染、细菌感染和非感染性炎症反应（如自身免疫性疾病），也可判断感染严重程度，具有广泛的临床应用前景。

应用科室

感染科 免疫科 儿科 血液科

检测指标及收费标准

CD45PerCP/CD64FITC，70元/CD分子标准。

参考文献

- Elawady S, Botros SK, Sorour AE, et al. Neutrophil CD64 as a Diagnostic Marker of Sepsis in Neonates. Journal of Investigative Medicine. J Invest Med. 2014 Mar;62(3):644-9.
- Hoffmann JJ. Neutrophil CD64: a diagnostic marker for infection and sepsis. Clin Chem Lab Med 2009;47(8):903-916.
- Umlauf VN, Dreschers S, Orlikowsky TW. Orlikowsky. Flow Cytometry in the Detection of Neonatal Sepsis. Int J Pediatr. 2013;2013:763191.
- M. Icardi, Y. Erickson, S. Kilborn. CD64 Index Provides Simple and Predictive Testing for Detection and Monitoring of Sepsis and Bacterial Infection in Hospital Patients. J Clin Microbiol. Dec 2009; 47(12): 3914-3919.



NovoCyte特点

免调PMT增益电压，24位动态检测范围

高达 10^7 动态检测范围，超越常规流式细胞仪1,000倍。

覆盖全部待检荧光和散射光信号范围，免除用户繁琐的PMT增益电压调节工作。一体化上样，检测及数据采集流程。

配置灵活，升级自如

多种波长激光器选配，满足个性化、多功能检测需求。

可更换滤光片和二向色反光片组合，灵活的荧光通道选配，通道升级快速便捷。

13个荧光检测通道：多个激光器(405nm, 488nm, 640nm)选配

蓝色、红色及紫色激光器选配，满足用户不同配置及检测需求。

原机升级，灵活支持应用拓展。

最新技术低功耗固态激光器，提供高品质、高稳定性的激发光源。

高精度、易维护的注射泵液流系统

直接进行精确的体积法绝对计数，无需绝对计数微球管或其它配套试剂。

液路实时监控，预防管路阻塞。高精度压力传感器实时监测流体状态，大大降低流道阻塞可能性，确保测试数据完整准确。

一键触动全自动清洗流程，最大限度减少样品间交叉污染，增强稀释样本检测能力。

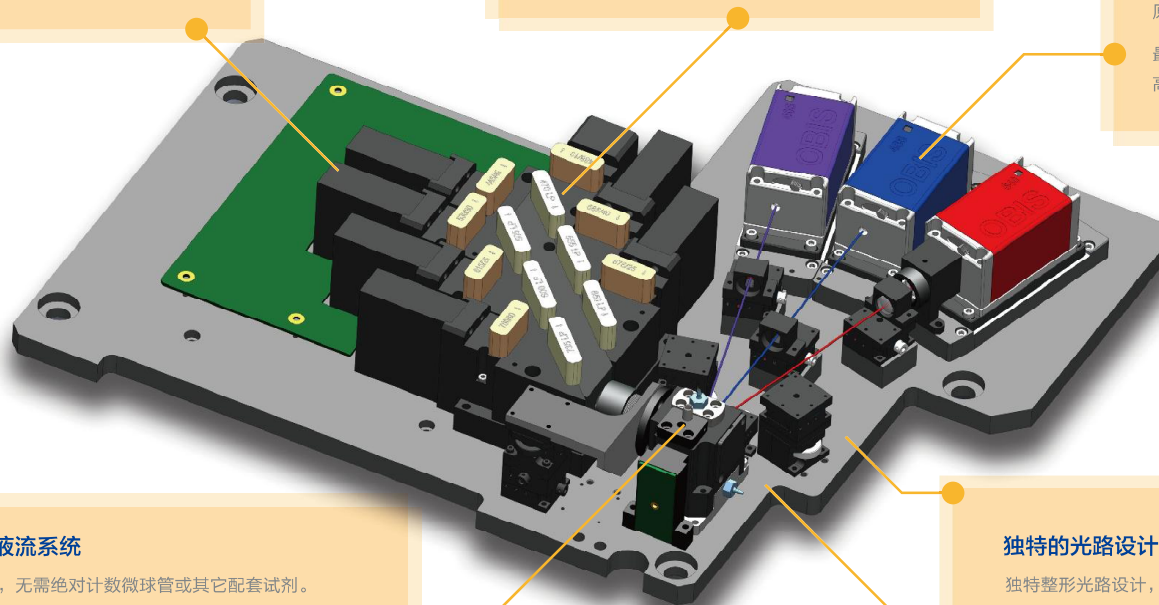
数字化信号采集系统，高达15,000细胞/秒检测速率。

独特的光路设计，强大的信号检测能力

独特整形光路设计，专利光信号收集系统，最大限度提高信号检测效率，及各荧光通道检测的灵敏度和分辨率。

固定光路设计，无需日常维护和调节，确保检测稳定可靠性。

优化的前向散射遮光设计，提高微小颗粒检测分辨率。





全国免费服务热线

400 600 1063



浙食药监械(准)字2014第2400581号

艾森生物(杭州)有限公司

地址: 中国浙江杭州三墩西园五路2号5幢

邮编: 310030

电话: 400-600-1063

传真: 0571- 28901358

网站: www.aceabio.com.cn

ACEA Biosciences Inc

Add: 6779 Mesa Ridge Rd # 100, San Diego, CA 92121 , USA

Tel: (858) 724-0928

Toll-Free: (866)308 -2232

Fax: (858) 724 0927

Web : www.aceabio.com