



1375

中华人民共和国医药行业标准

YY/T 0588—2017
代替 YY/T 0588—2005

流 式 细 胞 仪

Flow cytometer

2017-12-05 发布

2018-12-01 实施

国家食品药品监督管理总局 发布



前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准在 YY/T 0588—2005《流式细胞仪》的基础上修订而成,与 YY/T 0588—2005 相比,除编辑性修改外主要技术变化如下:

- 修改了规范性引用文件;
- 修改了“倍体”定义;
- 修改了“荧光灵敏度”名称及要求,改为“荧光检出限”,增加了其他激光器对应通道荧光素的荧光检出限要求;
- 修改了“前向角散射光灵敏度”名称,改为“前向角散射光检出限”;
- 修改了“仪器分辨率”要求,去掉半峰宽要求,并规定 FSC、FITC、PE 的要求,其他荧光素符合制造商要求(见 4.5 仪器分辨率要求);
- 修改了“表面标志物检测准确性”要求,增加了 CD_{16}/CD_{56} 和 CD_{19} 的要求;
- 修改了“表面标记物检测的重复性”要求,将 CD_3 、 CD_4 、 CD_8 阳性百分比结果的变异系数进行分段要求,并增加测量 CD_{16}/CD_{56} 及 CD_{19} 的要求(见 4.9 表面标记物检测的重复性要求);
- 修改了“携带污染率”要求,改为不大于 0.5%;
- 删除了“仪器功能”;
- 增加了 GB 4793.9、YY 0648 安全要求内容(见 4.14 安全);
- 增加了 GB/T 18268.1、GB/T 18268.26 电磁兼容要求内容(见 4.15 电磁兼容);
- 修改了“荧光检出限”试验方法(见 5.2 荧光检出限);
- 修改了“荧光线性”试验方法(见 5.3 荧光线性);
- 修改了“前向角散射光检出限”试验方法(见 5.4 前向角散射光检出限);
- 修改了“仪器分辨率”试验方法(见 5.5 仪器分辨率);
- 修改了携带污染率试验方法(见 5.10 携带污染率)。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别这些专利的责任。

本标准由国家食品药品监督管理总局提出。

本标准由全国医用临床检验实验室和体外诊断系统标准化技术委员会(SAC/TC 136)归口。

本标准主要起草单位:北京市医疗器械检验所、贝克曼库尔特商贸(中国)有限公司、碧迪医疗器械(上海)有限公司、深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司、艾森生物(杭州)有限公司。

本标准主要起草人:宋伟、刘秋月、李为公、吴煦、吴坚。

本标准代替了 YY/T 0588—2005。

流 式 细 胞 仪

1 范围

本标准规定了流式细胞仪(flow cytometer, FCM)的术语和定义、产品分类、技术要求、试验方法、标志、标签和使用说明、包装、运输和贮存。

本标准适用于临床使用的对单细胞或其他非生物颗粒膜表面以及内部的生物化学及生物物理特性成分进行定量分析和分选(只限于有分选功能的流式细胞仪)的流式细胞仪。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件,仅注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

GB/T 191 包装储运图示标志

GB 4793.1 测量、控制和实验室用电气设备的安全要求 第1部分:通用要求

GB 4793.9 测量、控制和实验室用电气设备的安全要求 第9部分:实验室用分析和其他目的自动和半自动设备的特殊要求

GB/T 14710 医用电气设备环境要求及试验方法

GB/T 18268.1 测量、控制和实验室用的电设备 电磁兼容性要求 第1部分:通用要求

GB/T 18268.26 测量、控制和实验室用的电设备 电磁兼容性要求 第26部分:特殊要求 体外诊断(IVD)医疗设备

GB/T 29791.3 体外诊断医疗器械 制造商提供的信息(标示) 第3部分:专业用体外诊断仪器

YY 0648 测量、控制和实验室用电气设备的安全要求 第2-101部分:体外诊断(IVD)医用设备的专用要求

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

分辨率 resolution

流式细胞仪在测量时所能达到的最大精度。

3.2

荧光检出限 sensitivity of fluorescence

流式细胞仪能检测到的最少荧光分子数。流式细胞仪荧光检出限用 MESF(molecules of equivalent soluble fluorochrome)表示,即等量可溶性荧光分子。

3.3

散射光 scatter

细胞在液流中与激光交会时,向空间 360°立体角的所有方向散射光线,称为散射光。

3.4

前向角散射光 forward scatter, FSC

在入射光正前方检测到的散射光称为前向角散射光,前向角散射光的强弱与细胞的大小有关。

3.5

侧向角散射光 **side scatter, SSC**

也称 90° 散射光。侧向角散射光对细胞膜、胞质、核膜的折射率更为敏感,对胞质内较大的颗粒也会有反应,可获得有关细胞内部精细结构和颗粒性质的信息。

3.6

前向角散射光检出限 **FSC sensitivity**

流式细胞仪能够检测到的最小颗粒大小,以前向角散射光最小能检测到的颗粒直径表示。

3.7

倍体 **polity**

生物体细胞(包括动物细胞、植物细胞、微生物)的遗传物质含量。

3.8

携带污染率 **carry-over**

分析物被仪器由一个检测样品到下一个样品的携带量,从而错误地引起第二个被测样品分析物浓度的增加。

3.9

标准微球 **standard particle**

大小一致和(或)标有强度一致、恒定不变荧光素的微球,用于流式细胞仪的校准。

4 技术要求

4.1 正常工作条件

流式细胞仪的正常工作条件应符合如下要求:

- a) 环境温度:按照流式细胞仪说明书的规定;
- b) 相对湿度:按照流式细胞仪说明书的规定;
- c) 电源电压:交流 $220\text{ V} \pm 22\text{ V}$, $50\text{ Hz} \pm 1\text{ Hz}$;
- d) 大气压力:按照流式细胞仪说明书的规定;
- e) 防止阳光直射,避免热源。

4.2 荧光检出限

流式细胞仪的荧光检出限应符合下列要求:

- a) 流式细胞仪对异硫氰酸荧光素(FITC)的荧光检出限应不大于 200 MESF;
- b) 流式细胞仪对藻红蛋白(PE)的荧光检出限应不大于 100 MESF;
- c) 流式细胞仪对其他激光器(例如红激光、紫激光、紫外激光、绿激光)所对应通道荧光素(每种激光器至少选择一种荧光素)的荧光检出限应符合制造商声称的要求。

4.3 荧光线性

流式细胞仪荧光强度线性相关系数(r)应不低于 0.98。

4.4 前向角散射光检出限

流式细胞仪前向角散射光检出限应不大于 $1\text{ }\mu\text{m}$ 。

4.5 仪器分辨率

流式细胞仪前向角散射光和荧光信号的荧光通道全峰宽应满足表 1 要求。

表 1 仪器分辨率要求

荧光素	要求(CV)
FSC	$\leq 3.0\%$
FITC	$\leq 3.0\%$
PE	$\leq 3.0\%$
其他荧光素	符合制造商要求

4.6 前向角散射光和侧向角散射光分辨率

4.6.1 应可以将外周血中红细胞和血小板分开。

4.6.2 应可以将外周血白细胞三群(淋巴细胞、单核细胞、粒细胞)分开。

4.7 倍体分析线性

流式细胞仪进行二倍体细胞周期分析时, G_2/M 与 G_0/G_1 的平均荧光强度比值应在1.95~2.05范围内。

4.8 表面标志物检测准确性

流式细胞仪检测质控血时,淋巴细胞表面表达的 CD_3 、 CD_4 、 CD_8 、 CD_{16}/CD_{56} 和 CD_{19} 阳性百分比结果应在给定范围内。

4.9 表面标志物检测的重复性

重复检测样品 CD_3 、 CD_4 、 CD_8 、 CD_{16}/CD_{56} 和 CD_{19} 阳性百分比结果的变异系数(CV)应符合:

- 阳性百分比大于等于30%时,CV值应不大于8%;或
- 阳性百分比小于30%时,CV值应不大于15%。

4.10 携带污染率

流式细胞仪的携带污染率应不大于0.5%。

4.11 仪器稳定性

环境温度变化不超过设定温度的5%时,在8 h内检测前向角散射光(FSC)及所有荧光通道峰值荧光道数的波动范围应不超过 $\pm 10\%$ 。

4.12 外观

外观应符合下列要求:

- 仪器外观应整洁,无划痕,文字和标识清晰;
- 紧固件连接应牢固可靠,不得有松动。

4.13 环境试验

应符合GB/T 14710中气候环境I组,机械环境I组的要求。

4.14 安全

应符合GB 4793.1、GB 4793.9、YY 0648中适用条款的要求。

4.15 电磁兼容

应符合 GB/T 18268.1、GB/T 18268.26 中适用条款的规定。

5 试验方法

5.1 试验条件

按照 4.1 的试验条件进行,使用与流式细胞仪适配的试剂、质控品及标准微球,并在试验之前按照制造商的使用说明对流式细胞仪进行正确的操作和校准。

5.2 荧光检出限

将标准微球充分混匀后上机进行试验,收集不少于 10 000 个标准微球,对试验结果进行直方图分析,得到各个峰的平均荧光强度;根据标准微球说明书提供的各个峰的等量 MESF 数,以及分析得到的各个峰的平均荧光强度,取常用对数(Lg 值)做线性回归,空白微球处的平均荧光强度值对应的 MESF 数的反对数即为荧光检出限。

5.3 荧光线性

将标准微球充分混匀后上机进行试验,收集不少于 10 000 个微球,流式细胞仪运用直方图对试验结果分析,得到各个峰的平均荧光强度;根据标准微球说明书提供的各个峰的等量 MESF 数,以及分析得到的各个峰的平均荧光强度,以 MESF 数(y)和平均荧光强度(x)的线性回归,计算相关系数(r)。

5.4 前向角散射光检出限

将标准微球充分混匀后上机进行检测,检查直方图上显示的峰值信号,及显示峰值信号的标准微球直径。

5.5 仪器分辨率

将标准微球充分混匀后上机进行试验,计算出各荧光通道标准微球全峰宽的 CV 值,结果应符合 4.5 的要求。

5.6 前向角散射光和侧向角散射光分辨率

5.6.1 在装有 1 mL 鞘液的试管中加入 5 μ L 枸橼酸钠抗凝全血,混匀后,上机检测,检查前向角散射光和侧向角散射光点图是否可以将血小板和红细胞分开。

5.6.2 取 100 μ L EDTA 抗凝全血,溶解红细胞后上机检测,检查前向角散射光和侧向角散射光点图是否可以将白细胞三群(淋巴细胞、单核细胞、粒细胞)分开。

5.7 倍体分析线性

使用经过荧光染色的标准细胞株或标准细胞核,上机检测 G_0/G_1 期及 G_2/M 期的平均荧光强度,计算 2 个平均荧光强度的比值。

5.8 表面标志物检测准确性

使用已标记好 CD_3 、 CD_4 、 CD_8 、 CD_{16}/CD_{56} 和 CD_{19} 的质控细胞上机测试,重复测定 5 次,依次记录每次检测的 CD_3 、 CD_4 、 CD_8 、 CD_{16}/CD_{56} 和 CD_{19} 阳性值的百分比,并分别计算平均值。

5.9 表面标记物检测的重复性

按照 5.8 的方法进行试验,重复测试 10 次,按照式(1)分别计算 CD_3 、 CD_4 、 CD_8 、 CD_{16}/CD_{56} 和 CD_{19} 阳性百分比结果的变异系数(CV)。

$$CV = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100\% \quad \dots\dots\dots (1)$$

式中:

CV —— 变异系数;

SD —— 标准差;

$\bar{x}$ —— 测量值的平均值。

5.10 携带污染率

使用浓度为(5 000~10 000)个/ μ L 的标准微球上机进行测试,至少收集 100 000 个标准微球,连续测试 3 次,计算标定区域的颗粒数,分别记为 H_{i-1} 、 H_{i-2} 、 H_{i-3} ;再进行空白数量测试(收集 30 s),连续测试 3 次,计算标定区域的颗粒数,分别记为 L_{i-1} 、 L_{i-2} 、 L_{i-3} ;按照此程序循环 3 次,再按式(2)计算携带污染率(C_i),取最大值。所得结果满足 4.10 的要求。

$$C_i = \frac{L_{i-1} - L_{i-3}}{H_{i-3} - L_{i-3}} \times 100\% \quad \dots\dots\dots (2)$$

式中:

C_i —— 第 i 次循环的携带污染率值;

$i=1\sim 3$ 。

5.11 仪器稳定性

将标准微球充分混匀后上机进行试验,测试完成后,利用直方图分析试验结果,计算标准微球的平均荧光强度值(FL_1);连续开机 8 h 后,在相同流式细胞仪设置和荧光道数的条件下重复前述试验步骤,得到标准微球的平均荧光强度值(FL_2);按式(3)计算 FL_1 、 FL_2 的偏差值(B)。

$$B = \frac{FL_{i1} - FL_{i2}}{FL_{i1}} \times 100\% \quad \dots\dots\dots (3)$$

式中:

FL_1 —— 0 h 标准微球平均荧光强度值;

FL_2 —— 8 h 后标准微球平均荧光强度值。

5.12 外观

在自然光下以正常视力或矫正视力目视检查,应符合 4.12 的要求。

5.13 环境试验

按照 GB/T 14710 中适用条款的试验方法进行。

5.14 安全

按照 GB 4793.1、GB 4793.9、YY 0648 中适用条款的试验方法进行。

5.15 电磁兼容

按照 GB/T 18268.1、GB/T 18268.26 中适用条款的试验方法进行。

6 标签、标记和使用说明

应符合 GB/T 29791.3 的规定。

7 包装、运输和贮存

流式细胞仪的包装、贮运图示标志应符合 GB/T 191 的规定。

7.1 包装

包装所使用的图示标志应符合 GB/T 191 的规定。

包装应能保证分析仪免受自然和机械性损坏。

包装箱内应附有使用说明书。

7.2 运输

按照制造商规定的要求进行运输。

7.3 贮存

按照制造商规定的要求进行贮存。

参 考 文 献

- [1] YY/T 1184—2010 流式细胞仪用单克隆抗体试剂
-

中 华 人 民 共 和 国 医 药
行 业 标 准
流 式 细 胞 仪
YY/T 0588—2017

*

中国标准出版社出版发行
北京市朝阳区和平里西街甲2号(100029)
北京市西城区三里河北街16号(100045)

网址 www.spc.net.cn

总编室:(010)68533533 发行中心:(010)51780238
读者服务部:(010)68523946

中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷
各地新华书店经销

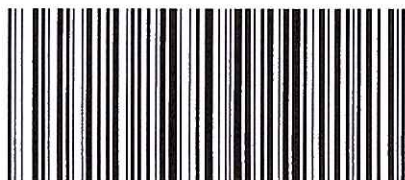
*

开本 880×1230 1/16 印张 0.75 字数 16 千字
2017年12月第一版 2017年12月第一次印刷

*

书号: 155066·2-32220 定价 18.00 元

如有印装差错 由本社发行中心调换
版权专有 侵权必究
举报电话:(010)68510107



YY/T 0588-2017