

用于注册临床试验中基于流式细胞术的生物 分析方法和样品检测的最佳实践(2025版)

Best practices for flow cytometry – based bioanalytical methods and sample testing in registration clinical trials (2025 edition)

杨 华¹, 许亚茹², 王 芳³,
李志艳⁴, 姜 朵⁵, 李洪婷⁶,
陈彦宇⁶, 张 雪⁶, 乐佳祺¹,
施 婧¹

(1. 上海益诺思生物技术股份有限公司, 上海 201203; 2. 上海药明康德新药开发有限公司, 上海 200131; 3. 军科正源(北京)药物研究有限责任公司, 北京 100102; 4. 上海熙华检技术服务股份有限公司, 上海 201318; 5. 上海盛迪医药有限公司, 上海 201210; 6. 齐鲁制药有限公司, 济南 250100)

YANG Hua¹, XU Ya – ru²,
WANG Fang³, LI Zhi – yan⁴,
JIANG Duo⁵, LI Hong – ting⁶,
CHEN Yan – yu⁶, ZHANG Xue⁶,
LE Jia – qi¹, SHI Jing¹

(1. Shanghai InnoStar Bio – tech Co., Ltd., Shanghai 201203, China; 2. WuXi AppTec (Shanghai) Co., Ltd., Shanghai 200131, China; 3. United – Power Pharma Tech Co., Ltd (UPP), Beijing 100102, China; 4. Shanghai Xihua Scientific Co., Ltd., Shanghai 201318, China; 5. Shanghai Shengdi Pharmaceutical Co., Ltd., Shanghai 201210, China; 6. Qilu Pharmaceutical Co., Ltd., Jinan 250100, Shandong Province, China)

基金项目:上海市战略性新兴产业发展专项基金资助项目(NA)

作者简介:杨华(1987 –),女,助理研究员,主要从事非临床和临床大分子分析工作

通信作者:施婧,中国药学会医药生物分析专业委员会委员

Tel:021 – 6021999 – 3185

E – mail:Shijing_sj@hotmail.com

摘要:流式细胞术(FCM)由于其高通量、多参数和精确的分析能力,已经成为临床研究、诊断和治疗监测中不可或缺的工具。近年来由于新型生物工程技术和细胞基因治疗药物的飞速发展,依赖于流式细胞术的一些关键指标在注册临床研究中的重要性更加突出,临床研究中基于流式细胞术的生物分析方法学验证暂无明确的法规或者指导原则,因此流式细胞术方法学验证也需在行业形成共识和最佳实践。流式细胞术方法学验证是为了确保流式细胞术在科学研究和临床应用中产生可靠、准确和可重复的结果,通过评估多个性能参数来验证该方法在特定应用场景及试验需求下的适用性。基于流式细胞术的复杂多样性以及临床试验中面临较多问题和挑战的现状,由中国药学会医药生物分析专业委员会组织行业专家,就流式细胞术在临床研究中三大主要应用场景:免疫分型、受体占位及细胞治疗类药物的细胞动力学的方法开发和验证等方面达成共识和标准,旨在为此类研究的科学规范开展提供建议和参考。

关键词:流式细胞术;方法学验证;临床试验;专家共识

DOI:10.13699/j.cnki.1001 – 6821.2025.19.023

中图分类号:R466.6, R965.1 **文献标志码:**A

文章编号:1001 – 6821(2025)19 – 2844 – 07

Abstract: Flow cytometry (FCM), due to its high – throughput, multi – parametric and precise analytical capabilities, has become an indispensable tool in clinical research, diagnosis and treatment monitoring. In recent years, with the rapid development of new biotechnologies and emerging cell and gene therapy drugs, the importance of some key endpoints measured by flow cytometry in registered clinical studies has become even more prominent. Therefore, an expert consensus and best practice of the flow cytometry validation in the industry is urgently needed. The method validation of flow cytometry is to ensure reliable, accurate and reproducible results in scientific research and clinical applications. The validation process demonstrates the suitability of the method under specific application scenarios and experimental requirements by evaluating multiple performance parameters. Based on the complexity and diversity of flow cytometry and the current situation where there are many problems and challenges faced in clinical trials, the Bioanalysis Expert Committee of the Chinese Pharmaceutical Association has organized industry experts to reach a consensus and standards on aspects such as the method development and validation of immunophenotyping, receptor occupancy and pharmacokinetics

of cell therapies in clinical studies by flow cytometry, aiming to provide recommendations and references for the scientific and standardized conduct of such studies.

Key words: flow cytometry; method validation; clinical trials; expert consensus

流式细胞术(flow cytometry, FCM)是一种快速、高通量,定量分析单个细胞或颗粒的物理学和化学特性的技术。该技术广泛用于生物制药领域,包括免疫治疗、疫苗及细胞治疗等药物早期发现、临床前的体内外药理药效以及临床研究的各个阶段^[1]。流式细胞术可用于细胞周期分析、凋亡检测、细胞增殖、细胞杀伤、细胞蛋白表达水平测定、免疫分型、受体占位及细胞治疗产品的细胞动力学研究,为医药研发提供支持。

流式细胞术检测流程和检测方法多样化,复杂化,其实验目的和待测指标也各不相同,且基于流式细胞术分析的标准品一般也很难获得,另外流式数据分析没有固定的公式,数据解读具有一定的主观性等,可能导致检测结果不客观不准确,影响临床研究的判断,也可能给监管部门的工作带来困扰或难度。

因此,为了保证流式分析的可靠性和规范性,中国药学会医药生物分析专业委员会组织行业专家,根据流式分析的特点并结合法规文献和实践经验,共同探讨并制定了本共识和标准,为流式分析的规范开展提供参考。

1 流式细胞术在临床研究中的应用

根据流式细胞术的检测类型,临床研究中基于流式细胞术的生物分析主要包括3大类:免疫分型,受体占位,CAR-T类细胞治疗产品为代表的细胞动力学分析。以下基于该3类流式分析进行具体阐述。

1.1 免疫分型

基于流式的免疫分型分析,能反映机体当前的免疫功能、状态和免疫平衡水平,并可以辅助诊断某些疾病(如自身免疫病、免疫缺陷病、恶性肿瘤等)及发现不同免疫细胞的临床意义等,对分析发病机制、观察疗效、检测预后和健康管理都有重要意义。

1.2 受体占位

基于流式细胞术的受体占位分析(ROA)可用于监测药物与靶点的结合。在药物研发的不同阶段,具有不同的研究意义,在临床前毒理学研究中,可用于确认异种物种的靶向作用^[2];在临床药效学(PD)评价时,与药代动力学(PK)数据结合可用于建模,以优化临床试验设计,指导剂量选择,并确定靶标饱和度的持续时间和程度^[1,3,4]。当与抗药抗体(ADA)结果结合分析时,可用于评估ADA对药物结合受体的影

响,并监测长期受体结合与不良事件的关联。

1.3 细胞动力学分析^[5]

细胞和基因疗法(cell and gene therapy, CGT)是继小分子、大分子靶向疗法之后的新一代精准疗法,引领生物制药的新一轮浪潮。细胞治疗主要分为免疫细胞治疗、干细胞治疗和其它体细胞治疗。CAR-T(嵌合抗原受体T)疗法是当前CGT领域的研发热点,发展最为迅速且较成熟。在CAR-T疗法的开发中,通过流式细胞术进行细胞动力学分析,可以监测CAR-T细胞在患者体内的扩增、分布、存续以及功能状态,对于评估疗效、安全性及其与临床反应的相关性至关重要。

2 流式细胞术生物分析方法学开发

2.1 确认实验目的和检测指标

根据临床试验所处阶段并结合药物的作用机制,疾病机理、临床研究和诊疗指南等背景信息,确认实验目的和具体分析指标如待分析细胞亚群,标志物等。免疫分型需要特别关注稀有细胞,低表达标志物,受体占位需关注靶点表达强度,丰度,以及药物是否会影响受体的表达或内化。对于CAR-T的细胞动力学分析,需要关注CAR的阳性率等。

2.2 待测样本的选择

根据具体分析需求以及实际情况选择合适的样本类型,并在方法开发中选择最优样本保存方案^[6-7]。全血样本需要评估温度,抗凝剂,保护剂,保存管等的影响,一般选择常温或者2~8℃保存,特定试验类型如受体占位可以评估冻存全血或者PBMC的可行性。对于细胞动力学分析建议使用全血分析,可使用商售保存管如Transfix等延长稳定性。

2.3 检测模式的确认(受体占位)

受体占位有2种检测模式,一种是检测游离受体和总受体,另一种是检测结合受体和总受体的方式。

游离受体检测:加入竞争性结合抗体或荧光标记药物测定未被药物占据的受体;结合受体检测:加入荧光素标记的抗药单抗评估结合的受体;总受体检测:使用与靶标受体非竞争性结合的抗体或加入过量药物和使用标记有荧光素的抗药抗体^[6-7]。

对于受体占位研究,试剂可获得性,给药后受体表达的变化,受体的内化,ADA的产生等都是检测模式选择的考量因素,综合来看,优先选择结合受体检

测模式。

2.4 检测组合的确认

检测组合的确认基于待测标志物的表达,如丰度,各标志物的共表达特征,同时还需考虑流式细胞仪的配置、商业化可选试剂,荧光素等,具体可参照流式的设计原则进行检测组合的设计^[8-9]。另外,需要考虑潜在的抗体或者药物干扰。

对于 CAR-T 细胞动力学分析,CAR 检测试剂有多种选择,包含通用检测试剂如 Protein L,抗标签抗体(适用带标签的 CAR),特异性检测试剂如靶标蛋白,抗 CAR 的抗独特型抗体;具体选择哪种 CAR 检测试剂,需要考虑可获得性,成本以及特异性,如果可能推荐使用抗独特型抗体以获得更高的灵敏度和特异性^[10]。

2.5 操作流程的优化

方法开发中需要对使用的检测抗体的孵育温度,时间,孵育和清洗进行优化,并进行抗体滴定。对于含有 Fc 受体的细胞亚群(如抗原递呈细胞)检测,建议加入 FcR 受体阻断剂以降低非特异性结合。

全血样本的中红细胞裂解需要优化,如裂红液的选择,裂红和染色的顺序,裂红液的量,温度和时长;对于胞内或核内染色,需优化固定破膜流程;另外,可以考虑使用固定剂延长样本或者染色后样本的稳定性,并在方法开发中评估^[11]。

在受体占位方法开发中,药物和样本的孵育浓度,温度和时间也需评估考量。

2.6 药物剂量反应曲线(dose response curve)(受体占位)

剂量反应曲线的考察是为了确认检测药物与其靶蛋白之间的结合特性,为方法验证提供支持。鉴于

不同个体靶点表达丰度不同,建议至少考察 3 个个体的药物浓度和反应曲线^[12]。

2.7 标准品的选择(CAR-T 类细胞动力学方法)

在进行 CAR-T 细胞检测的方法开发中,有 3 种阳性对照样品可供选择,如稳转 CAR 的细胞系,制备的健康供体的 CAR-T 细胞以及 CAR-T 产品,实际需要考虑可获得性和适用性。一般情况,使用转导有 CAR 的健康供体的 T 细胞可行性更高且适用。方法开发中建议至少使用 3 批来自不同健康供体的 CAR-T 细胞^[10]。

2.8 绝对计数的优化

绝对计数方法包括单平台法和双平台法。单平台法使用裂解/无洗涤的方式,使用的样本少,且更精确。但是,无洗涤方法可能有较高的背景,若可行,建议优先选择单平台法^[10]。

双平台法包括将流式细胞术方法中获得的细胞亚群的比例与通过其他方法获得的母细胞群的绝对计数相结合。或者,同时做一个绝对计数管和一个全染管(检测管),绝对计数管中的样本使用简化的染色组合,采用裂解/无洗涤方式,包含细胞计数微球或体积测定。

2.9 灵敏度(CAR-T 细胞动力学和部分免疫分型)

对于稀有细胞的检测,建议进行灵敏度的评估;对于 CAR-T 细胞动力学方法开发建议进行灵敏度的优化和确认;方法优化的点包括:确定染色反应和样本上机采集所需的最佳细胞数量,可根据 ALLAN 和 KEENEY 提出的公式 $r = (100/CV)^2$, r 是满足一定的 CV% 接受标准的目标细胞群的 events 数目,CV% 是目标变异系数。以及细胞群的比例确定采集的细胞数量^[13]。

表 1 不同的 CAR 检测试剂的对比

Table 1 Comparison of different CAR detection reagent

检测试剂	结合机制	优势	劣势/限制性因素
靶标蛋白	与 CAR 的结合位点结合	高特异性	因 CAR 的不同而异,较低的亲和力或非特异性结合
抗独特型抗体	与 CAR 的独特型位点结合	高度特异性	因 CAR 的不同而已,高成本
Protein L	与 Ig 的 kappa 轻链结合	通用 & 成本低	非特异性结合/高背景
抗标签抗体	与 CAR 上的标签结合,代替与 CAR 结合的检测试剂	低成本	只适用于带有标签的 CAR 的检测

表 2 标准品的选择

Table 2 Choice of Standard

对照样品的来源	优势	劣势
稳转细胞系(如 CHO, Jurkat)	CAR 的表达一致,适用于抗体筛选和方法开发	样品中所含的细胞类型单一,缺少方法中绝大多数的细胞表面标志物,不利于实际样品分析的目的位置确认
制备的健康供体的 CART 细胞	相对较易获得,适用于们的设置,方法学验证	不能代表病人的实际情况
CART 产品(病人的 CART 细胞)	理想的对照样品	数量有限,较难获得

2.10 样本稳定性

方法开发中需对稳定性进行初步评估,样本稳定性时长应覆盖从样本采集到运输到检测机构的时长(T天),建议至少评估T+1天的稳定性;若稳定性不足以覆盖如上时间窗,需考虑冻存样本;对于PBMC样本,需要考察采集后分离前的样本稳定性,分离后的稳定性和冻存PBMC的稳定性^[14];另外,除了生物样本稳定性外,还需考察染色后的稳定性。

3 基于流式细胞术的生物分析方法学验证

鉴于临床试验中流式分析的多元性和复杂性,在确定验证内容时,应参考行业白皮书及文献,基于“Context-Of-Use”的原则,采用“Fit-For-Purpose”的策略,针对每一个方法应考虑几方面因素,包括:实验类型,分析数据类型,数据的使用情境,监管需求,和实验风险类别,根据具体情况来确定具体的验证参数以及验证到何种程度。如当检测结果用于药物安全性或有效性的重要判断标准时,应进行全验证,验证内容和标准应该符合临床试验监管部门的生物分析方法验证指导原则或行业白皮书。如检测结果仅作为探索性指标,可参考生物分析指导原则,结合研究目的开展必要的方法学确证或部分验证即可。

方法学验证参数罗列如下:

3.1 特异性

方法学开发已经确认了检测的特异性,验证阶段不需进行额外的实验,通常可设置合适的阴性对照(荧光扣除对照、同型对照、空白对照和样本内阴性对照)作为特异性评估的依据。

3.2 选择性(可选)

选择性是指干扰物质(如可溶性物质和治疗化合物)对方法学检测的影响。如果患者群体接受了免疫治疗,则应评估选择性。将治疗用化合物添加到生物基质如全血样本中制备得到3个不同浓度的选择性样本,并与未添加的样本并行测试。

3.3 精密度

考察批内、批间、不同人员、不同仪器及不同天的精密度。建议验证样品使用3~6个个体,每个验证样品3重复,至少2天,至少3个批次,且应在稳定性窗口内进行精密度评估。理想的接受标准为%CV在20%或者25%以内,对于低表达的细胞群,更高的接受标准(比如30%~35%以内)也可接受,但需要进行相关的说明^[15]。

对于受体占位,建议使用3~6个个体,每个个体至少3个浓度的验证样品,每个验证样品3重复,至少2天,至少3个批次。

对于CAR-T细胞动力学,建议使用3~6个个体,每个个体配制4至6个不同的浓度水平的验证样品,每个验证样品3重复,至少2天,至少3个批次^[10]。

3.4 稳定性

样本稳定性包括生物样本如全血稳定性(室温或者2~8℃)、长期和短期冻存稳定性(如适用)、样本处理/染色后稳定性(室温或者2~8℃)。建议使用3~6个个体进行稳定性评估。稳定性样本可以单管检测或根据检测机构的标准操作规程(SOP)进行;稳定性的评估可以伴随精密度的评估同步进行。

由于全血样本很难在采集后2h内进行基线检测,基线检测一般在采集后24h内进行测试,需在验证文件中明确。

通常认为不同验证时间点与基线值的偏差在20%内的样本是稳定的,并且至少80%的样本数应该满足上述标准。通常,基于这些检测的最终使用情境以及每个细胞亚群的生物学意义,更宽泛的接受标准(>20% difference)是可以接受的。

3.5 准确度

免疫分型和受体占位一般不评估准确度,对于CART细胞动力学方法建议进行准确度评估。CART细胞动力学准确度评估:建议使用3~6个个体,每个个体配制涵盖预期分析范围的4~6个不同浓度水平的验证样品,每个验证样品3重复,至少2天,至少3个批次。准确度可以伴随精密度评估同步进行。

3.6 方法灵敏度

灵敏度指的是精确检测低比例细胞群的能力。灵敏度包括检测限(limit of detection, LOD)、空白限(limit of blank, LOB)和定量下限(lower limit of quantitation, LLOQ)。

受体占位一般不评估灵敏度,CART细胞动力学方法建议进行灵敏度评估;对于免疫分型中稀有细胞的定量分析可根据情况决定。在验证方案中需要明确哪些细胞群需要验证灵敏度。

空白限和检测限(LOB & LOD) 建议至少3个个体(空白基质),至少3个重复,至少2个分析批,得到至少10个数据点,进行LOB和LOD的确认。空白限和检测限由空白样本的复管均值和标准差(standard deviation, SD)通过如下公式计算而来^[16]:

$$\text{LOB} = \text{Mean Blank} + 1.645 \times \text{SD};$$

$$\text{LOD} = \text{Mean Blank} + 3 \times \text{SD} \text{ (或者 } \text{LOD} = \text{LOB} + 1.645 \times \text{SD});$$

定量下限(LLOQ) 建议至少3个个体、每个个

体5个水平的样本,每个样本3复管来确定LLOQ^[17]。LLOQ为满足精密度和偏差接受标准的最小值,LLOQ的建立需要满足以下条件:

①所有复管结果大于检测限;②检测结果呈稀释线性, $R^2 \geq 0.98$;③精密度的CV达到接受标准(30%以内)。

3.7 稳健性

稳健性描述了分析方法不受方法参数的微小改变影响的能力,如抗体/裂红液孵育时长、流式细胞仪流速、离心时间等。一般在精密度评估的同时伴随考察。

3.8 残留(Carryover)

对于一些需要检测稀有细胞群的高灵敏度方法而言,需要评估仪器的残留。建议采取如下方式评估^[14]:

用高浓度样本(例如H1,H2,H3)和空白样本/低浓度样本(例如L1,L2,L3)来评估残留。一个分析批中,残留评估需重复3次,且所有的残留结果不应高于0.5%。如果评估的是稀有细胞群,则所有残留的

结果不应高于0.1%。

①样本检测顺序是H1-H2-H3-L1-L2-L3;

②计算公式: $CARRYOVER(\%) = [(L1 - L3)/(H3 - L3)] \times 100\%$ 。

3.9 剂量反应曲线(受体占位)

建议使用至少3个个体,每个个体使用至少5个药物浓度^[13],可以单管检测,药物浓度和反应曲线呈现随药物浓度升高信号水平升高趋势即可,无特定的接受标准。

综合上述3种试验类型,对流式方法学验证内容进行汇总,见表3:

4 流式分析的质量管控

流式细胞术检测过程中需要对流式分析的全流程进行质量管控,以获得高质量,准确,客观的结果。如下基于不同的试验阶段分别进行阐述。

4.1 分析前的质量管控

4.1.1 设备设施质量管控

实验过程中涉及到的仪器设备,需要建立相应的SOP,其中流式细胞仪作为关键设备,应进行完整的3Q

表3 方法学验证内容

Table 3 Content of methodology validation

验证参数	验证内容	计算/接受标准	适用场景试验类型
验证样本的制备/获得	模拟实际样本制备验证样本,如高、中、低水平样本	NA	细胞定量分析如CART细胞动力学方法或其他细胞绝对计数方法,受体占位方法
剂量反应曲线	制备覆盖实际待检测样本的检测水平范围的样本,观察剂量反应关系	存在剂量反应关系	受体占位
灵敏度LOB&LOD	至少3个个体,3次重复检测,至少3个分析批,至少10数值	$LOB = \text{Mean blank} + 1.645SD$; $LOD = LOB + 1.645SD$ or $\text{Mean mean} + 3SD$	细胞定量分析方法如CART细胞动力学方法或其他细胞绝对计数方法
灵敏度LLOQ	至少3个个体,每个个体至少5个浓度,3次重复检测	所有检测值高于LOB,线性成比例($r^2 \geq 0.98$),3重复的CV%不大于20%或25%,也可以根据实际方法开发结果在LLOQ初定义成35%	细胞动力学方法或其他细胞绝对计数方法
精密度	4~6个体数,3次重复,至少3个分析批,至少2人,至少2天	批内批间CV%不大于20%或25%,也可以根据实际的目的和方法开发结果定为35%以内	所有流式相关方法必做
特异性/选择性	空白全血样本和加入治疗药物的空白全血,至少3个个体	阴性样本的假阳性率不高于1%,阳性样本能够检测到(大于LLOQ)	可选,根据需要
样本稳定性	全血的室温/2~8℃稳定性,染色后样本的室温/2~8℃稳定性,建议4~6个个体	稳定性样本与baseline的CV%或difference在20%/25%,实际可以根据试验目的和方法开发结果定义为不大于35%	所有流失方法必做
稳健性	不同孵育温度和时长,不同仪器	同精密度接受标准(CV%不大于20%或25%,也可以根据实际的目的和方法开发)	可选,建议都做
Carryover 残留	至少2个样本,至少一阳性一阴性,阳性样本3重复(A1,A2,A3),阴性样本3重复,先采集阳性样本数据然后再采集3个阴性样本数据(B1,B2,B3)	$(B1 - B3)/(A3 - B3) = \text{carryover}$,应该足够低,最低需要满足厂商说明文件上的要求	建议所有流式方法都做,可以伴随一批精密度一起做
准确度	4~6个体数,3重复,至少3分析批,至少2人至少2天	批内批间CV%不大于20%或25%,也可以根据实际的目的和方法开发结果定为35%以内	一般不做,如果有合适的标准品能够准确定量,建议做

验证, SOP 中应对仪器的使用维护, 账号权限的管理, 数据的管理和备份等明确定义。建议每日质控微球进行性能跟踪确认, 日常清晰, 定期长清洗, 年度预防性维护。建议使用满足 FDA 21 CFR Part 11 要求的采集软件, 以确保产生的数据满足 GCP/GLP 相关要求。

4.1.2 人员的质量管控

应对实验人员进行全面的培训, 培训通过后方可进行实验。对于每一个验证的方法, 均应进行人员资质认证。

4.1.3 试剂的质量管控

抗体作为关键试剂管理。实验室应建立试剂管理 SOP, 对关键试剂进行全生命周期管理。关键试剂应严格遵守厂商建议的保存条件以及有效期。关键试剂批号更换时, 需对新批号试剂进行批次确证。

4.1.4 样品的质量管控

样品采集需使用分析方法既定的抗凝剂, 采血管或特定的保存管/保存方式, 按照既定温度进行运输, 并严格控制并监控温度及运输时限, 且在稳定期内完成样品的检测。对于可以冻存后长期保存的样品(如 PBMC), 以及需要添加添加剂的样品, 应对操作人员做好培训, 按照既定的操作方式进行, 并做好完备的记录。

4.2 分析过程中的质量管控

4.2.1 质控样品

建议在日常实验过程中设置分析批的质控样品, 质控样品应尽量保持与真实样品同样的操作流程。由于商业化质控品来源有限, 且检测指标有限, 建议实验室建立实验室内部质控, 并评估内部质控的稳定性和接受标准。

4.2.2 数据采集的质量管控

建议在分析的过程中电压和补偿保持一致, 不轻易对电压进行调节。若由于仪器故障或者维修后确有必要对电压进行调节, 需要在电压调节后进行相应的验证。

4.3 分析后的质量管控

4.3.1 数据分析设门的质量管控

流式实验中门的设置是数据分析的关键, 门的设置建议由经验丰富的人员进行, 对于弱表达阴阳群不明显的指标, 需要根据设置的相应的同型对照进行设门。

由于不同个体来源的样品非特异性吸附情况不同, 建议针对各受试者分别设置同型对照, 并参照同型对照进行设门。为提高数据质量的一致性, 在同一个分析批中同一个受试者一般建议使用同样的设门进行数据分析。

4.3.2 数据处理的质量管控

由于流式细胞术数据量较大, 且尚无较为成熟的自动化数据处理汇总系统, 建议质量控制部门和质量保证部门对数据进行深度复核和审核, 以保证数据的准确性, 同时加强原始数据的机上溯源。

4.3.3 数据管理的质量管控

原始数据和分析后数据(设门处理好后)建议及时保存, 或者导出至数据服务器备份, 数据保存位置应设置权限禁止修改和删除, 并定期进行备份, 确保数据的可溯源性。

5 结语

限于共识涉及多专业合作, 撰写成员经验有限, 难免存在不足之处, 期待业内专家和同道的意见和建议, 进一步完善共识内容。

本共识从流式方法学开发、方法学验证验证、临床样品分析的质量管控方面, 结合文献与实践经验总结制定。共识在起草撰写过程中, 遵循广泛求证、广泛参与以及广泛征求意见的原则。共识仅代表当前建议, 将基于科学研究进展及各方反馈不断完善与更新, 以使在各个阶段均有其适用性。

参与共识撰写的专家成员名单:

指导专家 王洪允(中国医学科学院北京协和医院)

执笔人 姜朵(上海盛迪医药有限公司)、李洪婷(齐鲁制药有限公司)、李志艳(上海熙华检测技术服务股份有限公司)、施婧(上海益诺思生物技术股份有限公司)、王芳(军科正源(北京)药物研究有限责任公司)、许亚茹(上海药明康德新药开发有限公司)、杨华(上海益诺思生物技术股份有限公司)

审阅专家 陈彦宇(齐鲁制药有限公司)、顾为华(上海熙华检测技术服务股份有限公司)、宋章莘(齐鲁制药有限公司)、王雪(上海盛迪医药有限公司)、王芳(军科正源(北京)药物研究有限责任公司)、袁吉民(上海盛迪医药有限公司)、张雪(齐鲁制药有限公司)

参考文献:

- [1] QUADRINI K J, HEGELUND A C, CORTES K E, et al. Validation of a flow cytometry - based assay to assess C5aR receptor occupancy on neutrophils and monocytes for use in drug development [J]. *Cytometry B Clin Cytom*, 2016, 90(2):177—190.
- [2] THWAY T M, MAGANA I, BAUTISTA A, et al. Impact of anti - drug antibodies in preclinical pharmacokinetic assessment [J]. *AAPS J*, 2013, 15(3):856—863.
- [3] FISHER TL, SEILS J, REILLY C, et al. Saturation monitoring of

- VX15/2503, a novel semaphorin 4D - specific antibody, in clinical trials [J]. *Cytometry B Clin Cytom*, 2016, 90(2):199—208.
- [4] SPILKER M E, SINGH P, VICINI P. Mathematical modeling of receptor occupancy data: A valuable technology for biotherapeutic drug development [J]. *Cytometry B Clin Cytom*, 2016, 90(2):230—236.
- [5] 中国中西医结合学会检验医学专业委员会, 王卉, 刘贵建. 流式细胞术在嵌合抗原受体-T细胞免疫治疗相关检验中的应用专家共识 [J]. *中华检验医学杂志*, 2022, 45(8):790—801.
- [6] DER STRATE B V, LONGDIN R, GEERLINGS M, *et al.* Best practices in performing flow cytometry in a regulated environment: feedback from experience within the European Bioanalysis Forum [J]. *Bioanalysis*, 2017, 9(16):1253—1264.
- [7] STEWART J J, GREEN C L, JONES N, *et al.* Role of receptor occupancy assays by flow cytometry in drug development [J]. *Cytometry B Clin Cytom*, 2016, 90(2):110—116.
- [8] MAECKER H T, TROTTER J. Flow cytometry controls, instrument setup, and the determination of positivity [J]. *Cytometry A*, 2006, 69(9):1037—1042.
- [9] MAHNKE Y D, ROEDERER M. Optimizing a multicolor immunophenotyping assay [J]. *Clin Lab Med*, 2007, 27(3):469—485.
- [10] SARIKONDA G, MATHIEU M, NATALIA M, *et al.* Best practices for the development, analytical validation and clinical implementation of flow cytometric methods for chimeric antigen receptor T cell analyses [J]. *Cytometry B Clin Cytom*, 2021, 100(1):79—91.
- [11] KAPPELMAYER J, GRATAMA J W, KARASZI E, *et al.* Flow cytometric detection of intracellular myeloperoxidase, CD3 and CD79a: Interaction between monoclonal antibody clones, fluorochromes and sample preparation protocols [J]. *J Immunol Methods*, 2000, 242(1):53—65.
- [12] AUDIA A, BANNISH G, BUNTING R, *et al.* Flow cytometry and receptor occupancy in immune - oncology [J]. *Expert Opin Biol Ther*, 2022, 22(1):87—94.
- [13] ALLAN A L, KEENEY M. Circulating tumor cell analysis: Technical and statistical considerations for application to the clinic [J/OL]. *J Oncol*, 2010, 2010: e426218.
- [14] Validation of assays performed by flow cytometry. 1st ed. CLSI guideline H62 (ISBN 978 - 1 - 68440 - 128 - 4 [Print]; ISBN 978 - 1 - 68440 - 129 - 1 [Electronic]). Clinical Laboratory Standards Institute, USA. 2021.
- [15] SELLIAH N, NASH V, ECK S, *et al.* Flow cytometry method validation protocols [EB/OL]. 2023 - 08 - 22. <https://currentprotocols.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/cpz1.868>.
- [16] BARNETT D, LOUZAO R, GAMBELL P, *et al.* & ICSH/ICCS Working Group. Validation of cell - based fluorescence assays: Practice guidelines from the ICSH and ICCS - part V assay performance criteria [J]. *Cytometry. B Clin Cytom*, 2013, 84(5):315—323.
- [17] GLENCROSS D, SCOTT L E, JANI I V, *et al.* CD45 - assisted PanLeucogating for accurate, cost - effective dual - platform CD4 + T - cell enumeration [J]. *Cytometry*, 2002, 50(2):69—77.

(收稿日期 2025 - 02 - 20)

作者更正

刊登于《中国临床药理学杂志》2025年7月第14期1963页至1968页的稿件《瑞马唑仑与右美托咪定在全身麻醉下行俯卧位脊柱手术患者的临床研究》作者更正内容如下:1963页内容“基金项目:湖北陈孝平科技发展基金会青年科学专项基金资助项目”修改为“湖北陈孝平科技发展基金会青年科学专项基金资助项目”,特此更正。