

# 浅谈医学院校流式细胞共享平台的建设与管理

林俊锦<sup>1</sup>, 郑淑萍<sup>1</sup>, 黄志鸿<sup>1</sup>, 林旭<sup>2</sup>

(福建医科大学, 福建 福州 350122 1. 公共技术中心; 2. 基础医学院)

**摘要:**流式细胞共享平台持续产出大量的实验数据, 应建立标准化质量管理体系为主导的技术服务体系来确保其实验的严谨性和可重复性。以福建医科大学公共技术中心流式平台的运行管理为例, 介绍如何提升仪器管理水平, 以获得高质量的流式实验数据, 实现流式细胞共享平台服务的标准化和规范化, 并为相关仪器管理者和使用者提供借鉴。

**关键词:**流式细胞仪; 仪器共享; 标准化

**中图分类号:**G647

**文献标志码:**A

**文章编号:**1009-4784(2022)05-0050-05

流式细胞仪作为一种具备多参数、高通量、高灵敏性和低使用成本特性的单细胞分析仪器, 广泛应用于生物学、临床医学、遗传学、免疫学和药学等与生命科学相关的研究领域。由不同功能流式细胞分析、分选仪组成的流式细胞共享平台(以下简称“平台”)已成为医学院校大型仪器共享中心的重要组成部分。但是流式细胞实验操作步骤较多, 仪器操作程序复杂, 不同的操作者会导致数据存在不一致的问题, 数据可比性差。因此, 如何建设高水平的流式平台, 以及平台如何提供标准化、规范化的技术服务和产出严谨性、可重复性数据, 成为医学院校和科研院所关注的焦点。笔者结合福建医科大学公共技术中心流式细胞平台的建设、管理实例, 提出系统性服务的质量管理措施建议, 为流式平台质量管理提供参考。

## 一、平台运行中存在的问题

### (一) 仪器购置制度不完善

目前, 全球商品化的流式细胞仪随着自动化程度、多参数检测能力等方面的快速发展导致用户可购置的仪器品牌、功能、型号选择众多<sup>[1]</sup>。而作为流式细胞仪购置主要来源的各级财政拨款普遍存在

预算执行时间紧、任务重等问题, 导致仪器购置前期调研不充分; 或是存在盲目追求高端倾向, 造成重复购置和仪器闲置; 或是由于配置过低、系统过于封闭而导致仪器在平台的使用率低等。此外, 仪器购置时应考虑加入长期维修保障条款, 以免当仪器出现较大故障时, 由于维修经费不足而长期闲置。

### (二) 平台辅助设施配置不到位

环境中温、湿度的变化对流式实验结果有很大的影响。流式细胞仪的基本结构包括液流系统、光学系统和电子系统, 具有分选功能的流式细胞仪还包括分选系统。因在仪器与环境、液路系统与光路系统间均存在着热传递从而影响仪器的热平衡。对于流式细胞分选仪, 当温度相差 2℃时, 鞘液粘滞度会变化 7.5%, 液滴断裂距离可能改变 11.5%, 另温度的波动可导致仪器信号强度相差 25% 以上<sup>[2-3]</sup>。而部分实验室的高湿度环境也将影响仪器激光效率, 如常用的 Canto II 流式细胞分析仪对于环境湿度特别敏感, 当环境湿度高于 60% 时, 操作软件将提示红蓝激光偏高, 甚至引发仪器停止运行。

实验室缺乏无菌设施引发分选后的样本产生微生物污染也是平台遇到的常见问题之一。流式分选仪的工作原理是将鞘液包裹的样本液流振荡成为单个液滴, 任何一个气溶胶液滴均可能包含导

收稿日期: 2022-09-08

资助项目: 福建省卫生计生委青年科研项目(2015-1-73); 福建省教育科学“十三五”规划课题(FJJKCGZ19-036)

作者简介: 林俊锦, 男, 实验师, 理学硕士。研究方向: 流式细胞术与医学实验室安全。

通信作者: 林旭, Email: linxu70@126.com

致感染的某种细胞<sup>[4]</sup>。因此平台的构建需注重实验室生物安全。

### (三)流式技术服务缺乏标准化管理体系

流式细胞术的操作包括试剂选择、样品制备、上样检测和结果分析的全过程,其中每一环节均可影响最终的检测结果。虽然目前使用的流式细胞仪自动化程度高,操作相对简单,初学者可快速学会如何使用设备,但其仪器操作能力并不能保证实验结果的严谨性和可重复性。

平台在技术服务过程发现的主要问题有:(1)购置的抗体试剂与现有的仪器配置不匹配;(2)用来制备流式样本的细胞或者组织中死细胞或碎片比例高导致其质量较差;(3)抗体缺乏有效滴定或染色过程不符合规范,导致其实验结果与预期不符;(4)部分实验设计中缺乏严谨的对照体系而被质疑其数据可靠性;(5)仪器参数设置、细胞群圈门不规范等。

### (四)平台专职管理员队伍建设不足

平台面临的样品多数是活体细胞,必须及时处理,所以管理员普遍超时工作,突发性临时加班的现象普遍存在。同时,为满足科研用户对流式技术新发展的要求,还需利用业余时间查阅资料、参加技术培训。因此,缺乏合理制度支持的工作热情将难以持续。此外,由于历史原因,流式平台往往被看作简单的设备服务机构。管理员则是仪器的操作工,而非科研团队的有机组成部分。平台难以构建合理的管理机制,管理员难以发挥其特长来参与科研实践,其职业发展空间受限,容易发生人才流失。

## 二、平台标准化、规范化建设的举措

针对上述问题,公共技术中心提出了一系列建设性意见并进行有效实施,全面提高平台的专业水平与产出科研成果的整体质量。

### (一)需求调研

一流的平台建设需求与高校“双一流”学科建设高度契合,在购置仪器前要充分调研科研需求,尤其是按需选型。平台教师可通过咨询、问卷调查等方式收集科研需求和仪器产业的现状;通过各地招标网查询近期在政府采购领域的中标或成交情况、价格及核心技术标准等与采购需求之间的对比情况;通过预计使用效率及风险分析,制定校内、外共享开放措施等避免出现仪器盲目购置、重复购置等问题。

客观公正的同行评价及管理人員的试用评价有利于了解所购置流式细胞仪的准确性能。该项调研内容应包括:(1)设计不足之处、虚假宣传、误导之处;(2)各项功能的实用性,检测性能实际对比;(3)仪器操作、维护的便利性;(4)长期运行的稳定性以及容易出现的故障;(5)公司售后维修和技术服务能力、态度;(6)其他同行经验性使用感受和评价。

为每台仪器购买整机维保服务,对仪器的预防和校正性维护可减少由仪器突发故障导致的实验试剂、人力及时间成本损失,保证仪器性能始终处于正常工作状态,提升大型仪器的使用效益。

### (二)辅助设施

1. 温、湿度控制。温、湿度是维持流式细胞仪稳定性中不可忽略的影响因素之一。恒定温度(18~23℃,每小时波动 $<\pm 1^{\circ}\text{C}$ )有利于仪器液流系统的稳定并延长其使用寿命,恒定湿度(45%~60%,每小时波动 $<10\%$ )有利于保持光学滤片的性能稳定<sup>[5]</sup>,故平台需安装具备无菌过滤功能的空调和拥有自动排水功能的除湿机保证仪器处于恒温、低湿环境中。

2. 流式分选需求。流式分选后的细胞有后续无菌培养的需求,因此分选实验室需维持环境洁净度,可设置在10万级以上标准的净化间内,配备紫外线杀菌设备用于分选前后进行灭菌消毒;配备超净台或生物安全柜能随时调节样本浓度或者制备样本;配备气溶胶管理选件进行负压抽吸,可有效疏散分选仓内的气溶胶颗粒,防止其散发到空气中产生污染<sup>[6]</sup>。

### (三)标准规范

平台技术工作需用标准化、规范化操作以减少仪器的故障率和降低维护成本,从而不断推进平台服务水平的进步。平台可引入第三版的流式细胞分析、分选指南<sup>[7]</sup>,国际细胞学学会(International Society for Advancement of Cytometry, ISAC)制定的流式细胞公共平台最佳规范<sup>[8]</sup>等行业标准,结合自身可达到、可执行的实际情况,针对不同的流式细胞仪建立独立的标准操作程序(Standard Operating Procedures, SOPs)用于仪器、试剂、样品、方法和数据的管理。SOPs的实施将确保仪器管理员、平台用户等多人协作的各个环节之间的顺畅衔接,提高流程效率,推动整体实验方法的可持续性。平台可视具体平台的环境资源,分阶段发展部分或所有环节的服务内容,并重点关注以下几个方面(图1)。

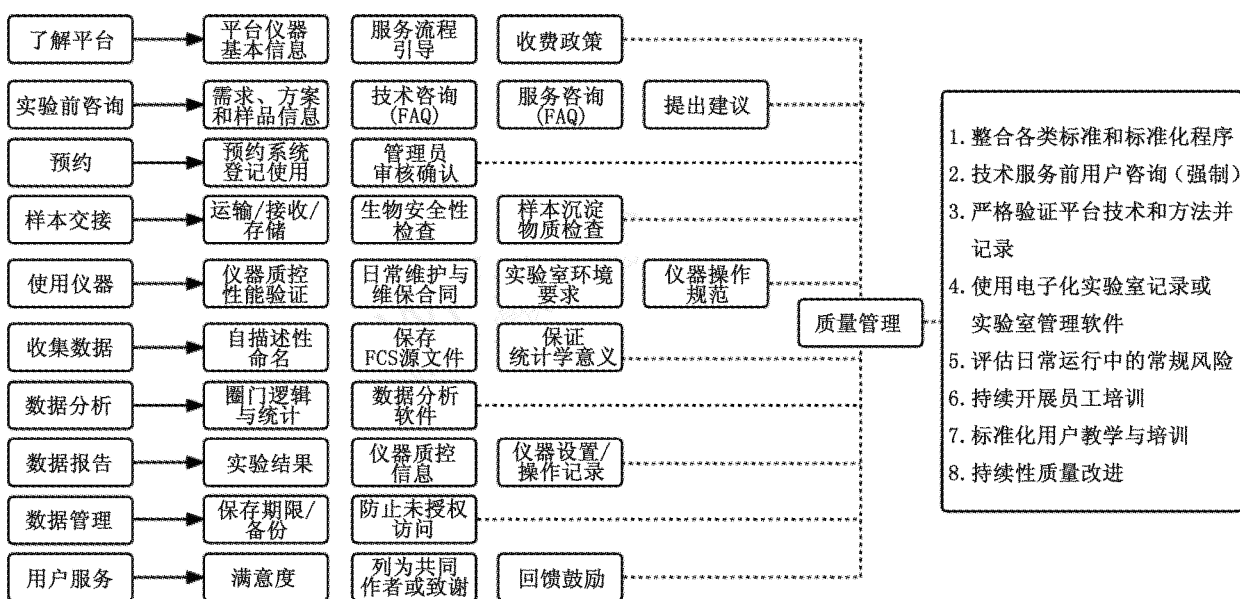


图1 公共技术中心流式平台运行管理体系

**1. 实验室规则与流程。**平台应建立相应的仪器使用规则,包括流式样本规范、计费程序、预约取消规则以及违规使用仪器时的处理原则。首先,梳理、制定仪器及软件详细操作规程,包括仪器开关机、预热和日常清洗的规范步骤;电压、补偿优化调节等内容;建立或调用已有的实验模板,数据分析和解读等内容;处理实验运行中样本堵塞管路等易发状况。详细的操作规程制定有利于快速掌握仪器操作的方法,提高使用效率,操作关键控制点进行细化和量化,确保实验的一致性。其次,因高端流式细胞仪优势在于可获得单份样品多细胞、多参数的数据,既而平台应提供自动化的分析软件,指导用户完成高维数据分析,达到流式分析结果的规范性和一致性。再次,公共平台通常不以盈利为主要目的,因此平台收费标准可参考无外部支持情况下维持平台运行的最低限度消耗。最后,平台需为实验数据提供保密服务,保护实验者的知识产权。

**2. 实验前用户咨询。**用户咨询是确保高质量流式细胞数据的第一步。平台与用户之间的沟通决定了实验的质量,所以平台需强制要求用户进行实验前咨询。管理员应建立标准的用户咨询流程,解决从实验设计到样品采集之间的所有关键步骤。平台进行标准化咨询的方法有很多,例如,在共享中心预约系统中将用户要求的所有信息制成电子表格,包括样本类型、单细胞制备、感兴趣细胞群、Panel设计、荧光通道、生物安全性以及根据实验设计向用户提出的建议,特别是使用适当的对照,包

括空白细胞对照、补偿对照、同型对照、阴性对照和阳性对照等<sup>[9]</sup>。一致性的用户咨询模式将提高数据的可重复性和质量水平。

**3. 仪器质控与维护。**仪器质控与维护是支撑实验结果可信度的重要基础。仪器质控与维护工作包括建立与执行质控方法相关规定,涵盖执行人员及执行频率;日常清洗维护程序;流式分选无菌鞘液制备和无菌灌注;仪器管路除菌方法和维修工程师介入的标准等内容。平台管理员若能做好预防性维护工作以及解决非硬件故障,将更有利于保障平台高效、顺利地运行。

**4. 培训与教学。**完善的技术培训体系是仪器规范管理、维护仪器良好运行状态的基础。平台应定期开展仪器使用操作培训,建立一份标准培训操作规程来保证每个使用者得到高质量的标准培训。培训的教学重点应强调对仪器工作原理,仪器运行和采集样品细节的理解。培训内容可包括流式细胞仪的基本原理、样本制备及应用、开关机及仪器维护、软件操作培训、操作练习以及仪器操作考核等,以使用户获得独立操作资格,实现全天候的仪器开放共享服务。用户具备独立操作的能力将对流式平台仪器多、管理人员不足等问题有较大的缓解作用。

**5. 生物安全。**针对平台每天进出人员繁杂且难以直接监控的现象,公共技术中心应执行实验室安全准入制度。首先,平台仅对已通过实验室安全知识考核并签订安全承诺书的人员开放。其次,建

立由学校生物安全委员会批准的生物安全标准操作程序,准确说明实验室能够接受的样本生物安全等级、穿戴的个人防护装备类型等。中心对于感染风险较高的样本,必须进行风险评估,以确定是否在三级生物安全实验室内进行操作。

**6. 探索性工作。**率先引进突破性、革命性新仪器技术是平台的探索性工作任务。通过探索性的开发工作可以大幅度提高仪器利用率,最大程度发挥仪器的资源优势、技术应用范围,进而提高管理人员的专业水平。合作、整合是共享平台的发展趋势,流式平台可与其他技术平台资源共享进行技术创新。例如,流式细胞术可与单细胞基因组学进行结合,用一个样本就能完成细胞检测、分选和单细胞异质性研究的全流程,不仅节约研究时间和保护珍贵样本,而且这种靶向性更强的单细胞研究将获得更丰富的信息量<sup>[10]</sup>。

#### (四) 队伍建设

比硬件设备更为核心的是人员管理,在引进高素质人才的基础上,需要根据平台的工作性质,建立合理的激励政策以提高工作效率,同时鼓励职业培训和技术交流来促进流式人才的成长,建设促进“一流设备,一流技术”的流式培训与测试基地,成为促进生命科学发展的有力支撑。

**1. 建立合理的员工结构,使员工结构与平台的发展目标匹配。**2016年ISAC关于流式细胞仪的实际员工配备数量与理想员工配备数量的调查报告显示,70%的平台管理员认为合理的结构比是员工数:分选仪数:分析仪数为1:1:2<sup>[8]</sup>,但平台员工结构不能简单地通过每台或每类仪器由几个人分管来确定,还必须考虑员工的组成、专业技术及潜在才能与平台发展战略目标是否相匹配。比如测试型平台只负责完成日常实验技术服务工作,并保证提供稳定的技术支撑;纯研究型平台则需在提供技术服务的同时,兼顾课题研究产出科研成果。

**2. 严格、统一的仪器管理员培训是支持平台提供可重复性服务的重要举措。**首先,平台应组织员工形成学习小组,制定标准化的培训内容与流程掌握仪器操作技术,定期探讨新进展、典型案例和实验问题等,以便向用户提供建议和帮助。平台内不同工作岗位员工适当轮转,同时也参与、共享中心相互关联的不同技术平台之间的交叉培训。其次,平台每年可通过部门年度预算给予员工自我发展

的经费支持,制定人员年度培训计划,参加领域内各种学术和经验交流会,到国内外其他平台访学。再次,平台也可主办流式细胞术交流会,邀请国内高校同行专家及流式细胞试剂厂家资深技术支持来校开展讲座,更新实验员的知识结构,丰富仪器管理经验,提高仪器管理水平。

**3. 建立合理的绩效考核制度,引导仪器管理员开展优质服务,多劳多得。**这些绩效考核制度包括:(1)制定仪器独立操作资格上岗证培训津贴标准,鼓励仪器管理员积极开展用户培训,提升用户共享开放程度;(2)设立科研服务奖,对平台工作人员进行署名及致谢的高水平论文进行奖励,鼓励中心人员提供高水平科研服务;(3)设立技术推广奖,对科研服务业绩优良、技术精湛,在同行中具有较高知名度,并因此受邀在国内外专业会议上作公开报告的人员进行奖励;(4)平台也应鼓励仪器管理员申报实验技术类课题,通过研究开发优化所需实验流程、方法,增强管理员在仪器辅助操作过程中分析、解决问题的能力。

### 三、公共技术中心标准化管理的主要成效

2019年福建医科大学公共技术中心制定并实施本研究所的平台服务标准化管理体系以来,中心大型仪器共享预约系统提供的数据显示,2019—2021年,平台的服务样本量分别为4 808,5 507,13 299;机时数分别为1 998,2 330,3 637。平台仪器共享率、使用率均逐年上升。具有独立操作资格用户的非工作时段仪器使用时长大幅增加,极大程度缓解了实验预约难和受时间限制的问题,最大限度地满足了科研工作的需要。此外,众多用户还在发表的科研论文中对平台进行致谢或直接将平台管理员列为共同作者。2019—2021年,平台满意度调查结果每年均达95%以上,这说明以标准化质量管理体系为主导的技术服务体系有力地提升了平台的服务水平与科研结果产出水平。

### 四、小结

大型仪器设备的采购、使用、管理、收费和人员等方面一直是高等院校关注的重点问题,而设备购

置后管理效率低、使用率低、机时数少或仅供参观使用则是学校所关注的难点问题。中心应通过设立大型仪器共享中心,提升中心管理水准,强化管理人员的业务素质等措施是提高设备利用率。

流式平台建设发展的立足点在于所服务的科研体系对平台专业技术的需求,包括技术功能性需求、机时资源需求和实验结果质量要求等,因此平台需要不断增加可用的技术资源,以标准化、规范化的技术开展服务项目,增强服务质量,特别是数据可靠性,促进探索性工作成果的产生。

#### 参考文献:

- [1] MANOHAR S M, SHAH P, NAIR A. Flow cytometry: principles, applications and recent advances[J]. *Bioanalysis*, 2021, 13(3): 181-198.
- [2] BUSCHER M. Flow cytometry instrumentation: an overview[J]. *Current protocols in cytometry*, 2018, 87(e52).
- [3] 孔小丽, 买制刚, 林桂森, 等. 基于校园卡自助系统流式检测平台的管理探讨[J]. *现代科学仪器*, 2019(6): 115-118.
- [4] BACK J B, MARTINEZ L, NETTENSTROM L, et al. Establishing a biosafety plan for a flow cytometry shared resource laboratory [J]. *Cytometry A*, 2022, 101(5): 380-386.
- [5] TELFORD W G. Overview of lasers for flow cytometry [J]. *Methods Mol Biol*, 2018, 1678: 447-479.
- [6] 李艳伟, 王佳佳, 黄莹莹, 等. 不同激发方式的流式细胞分选仪一体化管理模式研究[J]. *中国医学装备*, 2022, 19(4): 179-183.
- [7] COSSARIZZA A, CHANG H D, RADBRUCH A, et al. Guidelines for the use of flow cytometry and cell sorting in immunological studies (third edition)[J]. *Eur J Immunol*, 2021, 51(12): 2708-3145.
- [8] BARSKY L W, BLACK M, COCHRAN M, et al. International society for advancement of cytometry (ISAC) flow cytometry shared resource laboratory (SRL) best practices[J]. *Cytometry A*, 2016, 89(11): 1017-1030.
- [9] GRAHAM A, KORECKY J, SCHULTZ E, et al. Considerations for user consultation in a flow cytometry shared resource laboratory [J]. *Cytometry A*, 2022, 101(3): 228-236.
- [10] OLSEN L R, LEIPOLD M D, PEDERSEN C B, et al. The anatomy of single cell mass cytometry data [J]. *Cytometry A*, 2019, 95(2): 156-172.

(编辑:陈越,李鑫梅)

#### [简讯]

## 我校本科生在“人卫杯”第十一届全国医药卫生管理专业 本科生毕业论文(设计)竞赛中取得佳绩

日前,“人卫杯”第十一届全国医药卫生管理专业本科生毕业论文(设计)竞赛的获奖名单揭晓,我校卫生管理学院2018级公共事业管理专业本科毕业生刘大师的论文《CHS-DRG对某三甲医院医疗服务质量的影响研究》(指导教师:朱俊民,陈学宇)获一等奖,刘凤宇的论文《我国老年高血压患者遵医嘱行为及相关因素分析》(指导教师:刘晓君)获三等奖。