

医疗器械产品技术要求编号：

CD8+19 FITC/CD3+56 PE/CD45 PC5.5/CD4 PC7/MitoDye/NIR 检测试剂盒（流式细胞仪法）

1. 产品型号/规格及其划分说明

96 人份/盒

2. 性能指标

2.1 外观

2.1.1 产品的外观应完好无损；产品包装上的文字符号标识清晰；

2.1.2 冻干的产品中应有白色沉淀物附着于管底（壁）。

2.2 净含量

2.2.1 TBNK 多色检测试剂净含量应不低于 1.92mL；

2.2.2 溶血素净含量应不低于 25mL；

2.2.3 细胞活性染色剂含量应不低于 96 μ L。

2.3 准确度

2.3.1 使用 TBNK 多色检测试剂对已知靶值的国家参考品或质控血样本进行染色标记，在流式细胞仪上进行检测，CD3⁺、CD3⁺CD4⁺、CD3⁺CD8⁺、CD3⁻CD56⁺、CD3⁻CD19⁺细胞数量（相对计数和绝对计数）应在其靶值范围内。

2.3.2 使用淋巴细胞线粒体检测质控品对样本进行处理后，使用 TBNK 多色检测试剂和线粒体探针对样本染色，在流式细胞仪上进行检测，CD3⁺CD4⁺、CD3⁺CD8⁺、CD3⁻CD56⁺细胞功能（线粒体膜电位和线粒体含量）检测结果相关系数均不小于 0.9。

2.4 稀释线性

在线性范围内，制备 7 个不同浓度（分别为 5.1 $\times 10^3$ 个/ μ L、6.6 $\times 10^3$ 个/ μ L、8.7 $\times 10^3$ 个/ μ L、11.4 $\times 10^3$ 个/ μ L、14.9 $\times 10^3$ 个/ μ L、19.5 $\times 10^3$ 个/ μ L、25.6 $\times 10^3$ 个/ μ L）

的白细胞样本，使用试剂盒进行染色，不同浓度的细胞样本，在线性范围内，检测结果满足：

2.4.1 CD3⁺、CD3⁺CD4⁺、CD3⁺CD8⁺、CD3⁻CD56⁺、CD3⁻CD19⁺细胞数量（相对计数和绝对计数）的检测结果符合：

- 1) 当阳性细胞相对计数（百分比）小于 30%，检测结果中位数应位于所有稀释度测试值中位数绝对值的 3%范围内；或者
- 2) 当阳性细胞相对计数（百分比）大于等于 30%，检测结果中位数应位于所有稀释度测试值中位数相对值的 10%范围内。
- 3) 阳性细胞绝对计数实际检测值与阳性细胞绝对计数理论计算结果做相关性分析，相关系数不低于 0.95。

2.4.2 CD3⁺CD4⁺、CD3⁺CD8⁺、CD3⁻CD56⁺细胞功能（线粒体膜电位和线粒体含量）的检测结果符合：

- 1) 当细胞线粒体膜电位小于 30%，检测结果中位数应位于所有稀释度测试值中位数绝对值的 3%范围内；或者
- 2) 当细胞线粒体膜电位大于等于 30%时，检测结果中位数应位于所有稀释度检测值中位数相对值的 20%范围内。
- 3) 细胞线粒体含量校准值中位数应位于所有稀释度测试值校准值中位数相对值的 30%范围内。

2.5 批内精密度

使用试剂盒对同一样本重复检测（n=10），检测结果应满足以下要求。

2.5.1 CD3⁺、CD3⁺CD4⁺、CD3⁺CD8⁺、CD3⁻CD56⁺、CD3⁻CD19⁺细胞数量（相对计数和绝对计数）的检测结果符合：

- 1) 当阳性细胞相对计数（百分比）大于等于 30%时，CV 值不大于 8%；或者
- 2) 当阳性细胞相对计数（百分比）小于 30%，CV 值不大于 15%。
- 3) 当阳性细胞绝对计数大于等于 500 cells/ μ L 时，CV 值不大于 10%；或者
- 4) 当阳性细胞绝对计数小于 500 cells/ μ L 时，CV 值不大于 20%。

2.5.2 CD3⁺CD4⁺、CD3⁺CD8⁺、CD3⁻CD56⁺细胞功能（线粒体膜电位和线粒体含量）的检测结果符合：

- 1) 细胞线粒体膜电位，CV 值不大于 15%。

2) 细胞线粒体含量平均荧光强度检测结果 CV 值不大于 20%。

2.6 批间精密度

使用三批试剂盒对同一样本检测，检测结果应满足以下要求。

2.6.1 CD3⁺、CD3⁺CD4⁺、CD3⁺CD8⁺、CD3⁻CD56⁺、CD3⁻CD19⁺细胞数量（相对计数和绝对计数）的检测结果显示符合：

- 1) 当阳性细胞相对计数（百分比）大于等于 30%时，CV 值不大于 8%；或者
- 2) 当阳性细胞相对计数（百分比）小于 30%，CV 值不大于 15%。
- 3) 当阳性细胞绝对计数大于等于 500 cells/ μ L 时，CV 值不大于 10%；或者
- 4) 当阳性细胞绝对计数小于 500 cells/ μ L 时，CV 值不大于 20%。

2.6.2 CD3⁺CD4⁺、CD3⁺CD8⁺、CD3⁻CD56⁺细胞功能（线粒体膜电位和线粒体含量）的检测结果显示符合：

- 1) 细胞线粒体膜电位，CV 值不大于 15%。
- 2) 细胞线粒体含量平均荧光强度检测结果 CV 值不大于 20%。

2.7 染色稳定性

使用试剂盒对样本进行染色标记，染色后样本在 6h 后重复检测，前后检测结果应满足以下要求。

2.7.1 CD3⁺、CD3⁺CD4⁺、CD3⁺CD8⁺、CD3⁻CD56⁺、CD3⁻CD19⁺细胞数量（相对计数和绝对计数）的检测结果显示符合：

- 1) 当阳性细胞相对计数（百分比）大于等于 30%时，相对偏差值应不大于 10%；
或者
- 2) 当阳性细胞相对计数（百分比）大于等于 10%，小于 30%时，相对偏差值应
不大于 20%；或者
- 3) 当阳性细胞相对计数（百分比）小于 10%时，相对偏差值不大于 30%。
- 4) 当阳性细胞绝对计数大于等于 500 cells/ μ L 时，相对偏差值不大于 10%；或
- 5) 当阳性细胞绝对计数小于 500 cells/ μ L 时，相对偏差值不大于 20%。

2.7.2 CD3⁺CD4⁺、CD3⁺CD8⁺、CD3⁻CD56⁺细胞功能（线粒体膜电位和线粒体含量）的检测结果显示符合：

- 1) 细胞线粒体膜电位，相对偏差值不大于 15%。
- 2) 细胞线粒体含量平均荧光强度检测结果相对偏差值不大于 30%。

3. 检验方法

3.1 外观

目视检查试剂标签信息和试剂外观，结果应符合 2.1 的要求。

3.2 净含量

用经校准的移液器量取各试剂，检测结果应符合 2.2 的要求。

3.3 准确度

使用三批 TBNK 多色检测试剂对已知靶值的国家参考品或质控血 IMMUNO-TROLTM CELLS 质控血（供应商：贝克曼库尔特，货号：6607077）进行染色标记，制备好的样本在流式细胞仪上进行检测，每批试剂测定 3 次， $CD3^+$ 、 $CD3^+CD4^+$ 、 $CD3^+CD8^+$ 、 $CD3^-CD56^+$ 、 $CD3^-CD19^+$ 细胞数量（相对计数和绝对计数）的测定值检测结果均应符合 2.3.1 的要求。

使用 TBNK 多色检测试剂对从外周血中提取的 PBMC 样本（单个核细胞样本）进行染色后，加入淋巴细胞线粒体检测质控品中的标准线粒体呼吸链抑制剂样本进行处理，将处理后的样本分别加入到标准线粒体探针质控试剂和线粒体探针中，制备好的样本在流式细胞仪上进行检测；对三个靶细胞群 $CD3^+CD4^+$ 、 $CD3^+CD8^+$ 、 $CD3^-CD56^+$ 中所测得的 8 个荧光强度值(线粒体含量)和 7 个荧光强度值的相对变化量(线粒体膜电位) 的两组检测结果进行相关性分析，检测结果应符合 2.3.2 的要求。

3.4 稀释线性

制备高浓度白细胞样本，按 1.31 倍稀释为 7 个不同细胞浓度，浓度范围（个/ μL ）为 $5.1 \times 10^3 \sim 25.6 \times 10^3$ （ 5.1×10^3 个/ μL 、 6.6×10^3 个/ μL 、 8.7×10^3 个/ μL 、 11.4×10^3 个/ μL 、 14.9×10^3 个/ μL 、 19.5×10^3 个/ μL 、 25.6×10^3 个/ μL ），使用试剂盒对每个浓度样本进行标记，并在流式细胞仪上检测，每批试剂各浓度点重复测定 4 次，得到 $CD3^+$ 、 $CD3^+CD4^+$ 、 $CD3^+CD8^+$ 、 $CD3^-CD56^+$ 、 $CD3^-CD19^+$ 细胞数量（相对计数和绝对计数）和 $CD3^+CD4^+$ 、 $CD3^+CD8^+$ 、 $CD3^-CD56^+$ 细胞功能（线粒体含量和线粒体膜电位）的检测结果。将 $CD3^+$ 、 $CD3^+CD4^+$ 、 $CD3^+CD8^+$ 、 $CD3^-CD56^+$ 、 $CD3^-CD19^+$ 细胞数量（相对计数）和 $CD3^+CD4^+$ 、 $CD3^+CD8^+$ 、 $CD3^-CD56^+$ 细胞功能（线粒体膜电位）的检测结果，按照公式（1）、（2），分别计算稀释线性 L 或者 L%，结果应符合 2.4.1 中 1）、2）和 2.4.2 中 1）、2）的要

求；CD3⁺、CD3⁺CD4⁺、CD3⁺CD8⁺、CD3⁻CD56⁺、CD3⁻CD19⁺细胞数量（相对计数）数据中出现既有大于 30%也有小于 30%时，结果应符合 2.4.1 中的 2)的要求；CD3⁺CD4⁺、CD3⁺CD8⁺、CD3⁻CD56⁺细胞功能（线粒体膜电位）数据中出现既有大于 30%也有小于 30%时，结果应符合 2.4.2 中的 2)的要求。CD3⁺CD4⁺、CD3⁺CD8⁺、CD3⁻CD56⁺细胞功能（线粒体含量）的检测结果按照公式（2）计算稀释线性 L%，结果应符合 2.4.2 中 3)的要求；CD3⁺、CD3⁺CD4⁺、CD3⁺CD8⁺、CD3⁻CD56⁺、CD3⁻CD19⁺细胞数量（绝对计数），按照公式（3），计算相关系数 r，结果应符合 2.4.1 中 3)的要求。

$$L = | Mi - MT | \quad (1)$$

式中：

L——稀释线性；

Mi ——任一稀释度重复测试的中位数；

MT——所有稀释度重复测试的中位数。

$$L\% = | Mi - MT | / MT \times 100\% \quad (2)$$

式中：

L%——稀释线性；

Mi ——任一稀释度重复测试的中位数；

MT——所有稀释度重复测试的中位数。

$$r = \frac{\sum(x_{1i} - \bar{x}_1)(x_{2i} - \bar{x}_2)}{\sqrt{\sum(x_{1i} - \bar{x}_1)^2 \sum(x_{2i} - \bar{x}_2)^2}} \quad (3)$$

3.5 批内精密度

使用同批次的试剂盒对同一人全血样本进行染色标记，在流式细胞仪上检测（n=10），每批试剂分别得到 X1, X2, X3.....X10，各 10 个测定值，代入公式（4）、（5）、（6），分别计算 CD3⁺、CD3⁺CD4⁺、CD3⁺CD8⁺、CD3⁻CD56⁺、CD3⁻CD19⁺细胞数量（相对计数和绝对计数）与 CD3⁺CD4⁺、CD3⁺CD8⁺、CD3⁻CD56⁺细胞功能（线粒体膜电位和线粒体含量）检测结果的均值（ \bar{x}_a ）、标准差（ δ_a ）与变异系数（CV），CD3⁺、CD3⁺CD4⁺、CD3⁺CD8⁺、CD3⁻CD56⁺、CD3⁻CD19⁺细胞数量（相对计数和绝对计数）的结果应符合 2.5.1 的要求；CD3⁺CD4⁺、CD3⁺CD8⁺、CD3⁻CD56⁺细胞功能（线粒体膜电位和线粒体含量）的结果应符合 2.5.2 的要求。

计算公式为：

$$X_a = \frac{\sum x_i}{n} \quad (4)$$

$$\Delta a = \sqrt{\frac{\sum (x_i - x_a)^2}{n-1}} \quad (5)$$

$$CV = \frac{\delta a}{x_a} \times 100\% \quad (6)$$

其中 n 为样本总数， $i=1, 2, 3, \dots, 10$ ($n, i \in N$)

式中：

x_i —代表系列测定值 ($i=1, 2, 3, \dots, 10$ ($n, i \in N$))

x_a —代表测定均值

n —代表测定次数

δa —代表标准差

CV—批内变异系数

3.6 批间精密度

使用三批试剂盒对同一人全血样本进行标记，并在流式细胞仪上进行检测，每批试剂检测 3 次，得到 $CD3^+$ 、 $CD3^+CD4^+$ 、 $CD3^+CD8^+$ 、 $CD3^-CD56^+$ 、 $CD3^-CD19^+$ 细胞数量（相对计数和绝对计数）和 $CD3^+CD4^+$ 、 $CD3^+CD8^+$ 、 $CD3^-CD56^+$ 细胞功能（线粒体膜电位和线粒体含量）检测结果测定值，代入 3.5 中的公式（4）、（5）、（6），分别计算 $CD3^+$ 、 $CD3^+CD4^+$ 、 $CD3^+CD8^+$ 、 $CD3^-CD56^+$ 、 $CD3^-CD19^+$ 细胞数量（相对计数和绝对计数）和 $CD3^+CD4^+$ 、 $CD3^+CD8^+$ 、 $CD3^-CD56^+$ 细胞功能（线粒体膜电位和线粒体含量）结果的标准差（ δa ）和变异系数（CV）， $CD3^+$ 、 $CD3^+CD4^+$ 、 $CD3^+CD8^+$ 、 $CD3^-CD56^+$ 、 $CD3^-CD19^+$ 细胞数量（相对计数和绝对计数）的结果应符合 2.6.1 的要求； $CD3^+CD4^+$ 、 $CD3^+CD8^+$ 、 $CD3^-CD56^+$ 细胞功能（线粒体膜电位和线粒体含量）的结果应符合 2.6.2 的要求。

3.7 染色稳定性

使用试剂盒对同一人全血样本进行染色标记，立即上机检测 3 次，分别得到 3 组 $CD3^+$ 、 $CD3^+CD4^+$ 、 $CD3^+CD8^+$ 、 $CD3^-CD56^+$ 、 $CD3^-CD19^+$ 细胞数量（相对计数和绝对计数）和 $CD3^+CD4^+$ 、 $CD3^+CD8^+$ 、 $CD3^-CD56^+$ 细胞功能（线粒体膜电位和线粒体含量）的检测结果的测定值，分别计算 $CD3^+$ 、 $CD3^+CD4^+$ 、 $CD3^+CD8^+$ 、 $CD3^-CD56^+$ 、 $CD3^-CD19^+$ 细胞数量（相对计数和绝对计数）和

CD3⁺CD4⁺、CD3⁺CD8⁺、CD3⁻CD56⁺细胞功能（线粒体膜电位和线粒体含量）检测结果的检测结果均值 A；染色标记后的样本避光保存于 2~8℃环境下 6h 后，再检测 3 次，计算均值 B，根据公式（7）计算相对偏差（D），CD3⁺、CD3⁺CD4⁺、CD3⁺CD8⁺、CD3⁻CD56⁺、CD3⁻CD19⁺细胞数量（相对计数和绝对计数）的结果均应符合 2.7.1 的要求；CD3⁺、CD3⁺CD4⁺、CD3⁺CD8⁺、CD3⁻CD56⁺、CD3⁻CD19⁺细胞数量（相对计数）数据中出现既有大于 30%也有小于 30%时，结果应符合 2.7.1 中的 1)的要求；CD3⁺、CD3⁺CD4⁺、CD3⁺CD8⁺、CD3⁻CD56⁺、CD3⁻CD19⁺细胞数量（相对计数）数据中出现既有大于 10%也有小于 10%时，结果应符合 2.7.1 中的 2)的要求；CD3⁺CD4⁺、CD3⁺CD8⁺、CD3⁻CD56⁺细胞功能（线粒体膜电位和线粒体含量）的结果均应符合 2.7.2 的要求。

$$D = \frac{|A-B|}{A} \times 100\% \quad (7)$$

式中：D—相对偏差，%

A—染色后立即检测的结果均值

B—染色后避光保存于 2~8℃下 6h 后检测的结果均值

附录 A 主要原材料、生产工艺要求

1. 主要原材料

1.1 主要原材料的来源和基本信息

原材料名称	克隆号	生物学来源	供应商	刺激免疫原
鼠抗人 CD8 单克隆抗体 FITC 标记物	SK1	鼠抗人	Caprico	CD8
鼠抗人 CD19 单克隆抗体 FITC 标记物	HIB19	鼠抗人	Biolegend	CD19
鼠抗人 CD3 单克隆抗体 PE 标记物	SK7	鼠抗人	Biolegend	CD3
鼠抗人 CD56 单克隆抗体 PE 标记物	HCD56	鼠抗人	Biolegend	CD56
鼠抗人 CD45 单克隆抗体 PC5.5 标记物	F10-89-4	鼠抗人	Caprico	CD45

鼠抗人 CD4 单克隆抗体 PC7 标记物	SK3	鼠抗人	Caprico	CD4
MitoTracker Deep Red FM	/	化学合成	Thermo Fisher	/
Live or Dead Fixable Dead Cell Staining Kit (NIR)	/	化学合成	AAT Bioquest	/
Rotenone(鱼藤酮)	/	化学合成	MedChemExpress	/

1.2 主要原材料质量控制标准

1.2.1 外观

1.2.1.1 判断标准

1.2.1.1.1 荧光标记后的单克隆抗体应澄清透明；

1.2.1.1.2 化学合成试剂应有粉末状物或液体附着于管中。

1.2.1.2 检验方法

用移液器取出适量抗体检测试剂，光下目视检查，应符合 1.2.1.1.1 的要求；

光下目视检查试剂包装管，应符合 1.2.1.1.2 的要求。

1.2.2 浓度

1.2.2.1 判断标准

各抗体原材料的浓度均在 0.025~1.0 mg/mL 范围内。

1.2.2.2 检验方法

将 30 μL 的抗体用适量移液器加入 1.5 mL 的离心管中，再吸取 270 μL 的 PBS 加入到离心管中，混匀 5s 后用手托式离心机离心，吸取 300 μL 的稀释液至微量比色皿中。开启紫外分光光度计 15 分钟，自动校准，在 A₂₈₀ 处测定波长，在 A_{max} 处测定波长；

通过以下公式计算抗体蛋白浓度，计算结果应在 1.2.2.1 规定的范围内：

$$\text{蛋白浓度(M)} = \frac{A_{280} - (A_{\max} \times \text{CF})}{\varepsilon} \times \text{稀释比例}$$

ε
为蛋白质量消光系数

A_{\max} 为荧光蛋白的最大吸收波长

CF 为消光系数，调整荧光蛋白在 280nm 处引起的吸收量

1.2.3 紫外-可见吸收光谱最大发射波长

1.2.3.1 评价标准

能够在流式细胞仪相应的通道上显示信号。

1.2.3.2 检验方法

抗体染上人外周血后上机检测，设置荧光通道，观察在哪一个通道有信号显示，从而逆向找出最大的发射波长，结果应符合 1.2.3.1 的要求。

1.2.4 在特定激发波长下进行荧光发射光谱扫描时荧光素的最大吸收波长

1.2.4.1 评价标准

(测试最大吸收波长-理论最大吸收波长)/理论最大吸收波长 \leq 5%

1.2.4.2 检验方法

使用光谱模块测定连续波长范围内蛋白的吸收值变化，将波长范围设置为 OD400 至 OD800，扫描该波段范围内，测定蛋白的吸收值曲线，确定荧光蛋白的最大吸收波长。用合适的移液器吸取抗体原料 30 μ L 加入到 1.5 mL 的离心管中，用合适的移液器吸取 270 μ L 的 PBS 到 1.5 mL 的离心管中，转移到石英皿中，开启紫外分光光度计 15 分钟，自动校准，设置波长为 OD400-OD800，蛋白的吸收值曲线，确定荧光蛋白的最大吸收波长，结果应符合 1.2.4.1 的要求。

1.3 功能性实验

1.3.1 单克隆抗体最佳浓度选择

(1) 判断标准

得到待检原材料抗体的最佳浓度值 A (mg/mL)，对照原材料抗体的最佳浓度 B (mg/mL)。对照抗体原材料首次检测时的最佳浓度 C (mg/mL) 也可用以参考（见以下标准）：

标准 1.最佳浓度值 A 与 B 上下相差不超过一个梯度（即 $A=2B$ 或 $A=B$ 或 $A=1/2B$ 即可）。

标准 2.当条件 1 不符合，且 $A>2B$ 时，A 与 C 上下相差不超过一个梯度（即 $A=2C$ 或 $A=C$ 或 $A=1/2C$ 即可）。

(2) 检验方法

分别将待检和对照的抗体原材料进行梯度稀释，梯度稀释后的抗体按照说明书进行操作，分别比较待检和对照抗体原材料各浓度梯度，通过综合判断阳

性细胞百分比、荧光强度、信噪比指标，得到待检原材料抗体的最佳浓度值 A (mg/mL)，对照原材料抗体的最佳浓度 B (mg/mL)。

1.3.2 试样检测

试样检测有两种方案，当存在对照试剂时，优先选择方案 1，当不存在对照试剂时，可选择方案 2。

(1) 判断标准

方案 1：将荧光抗体原材料按照比例配制成 CD8+19 FITC/CD3+56 PE/CD45 PC5.5/CD4 PC7 试样，用已合格产品作为对照，比较试样与合格产品两者的阳性细胞百分比的偏差，要求：

- 1) 相对偏差值应符合：阳性百分比大于等于 30%时，相对偏差值应不大于 10%；
- 2) 或阳性百分比大于等于 10%，小于 30%时，相对偏差值应不大于 20%；
- 3) 或阳性百分比小于 10%时，相对偏差值不大于 30%，并且

方案 2：检测 CD8+19 FITC/CD3+56 PE/CD45 PC5.5/CD4 PC7 试样的准确度指标，结果应在靶值范围内。

(2) 检验方法

方案 1：采集健康人外周血，分别用合格的产品和 CD8+19 FITC/CD3+56 PE/CD45 PC5.5/CD4 PC7 试样染色，按照说明书操作，上机检测其阳性细胞百分比，比较两者的相对偏差，结果应符合要求。

方案 2：将配制好的 CD8+19 FITC/CD3+56 PE/CD45 PC5.5/CD4 PC7 试样，按照说明书进行操作，检测其准确度，要求重复检测 3 次，CD3+、CD3+CD4+、CD3+CD8+、CD3-CD16+56+、CD3-CD19+细胞百分比检测结果在靶值范围内。

1.3.3 化学合成试剂检验

(1) 判断标准

1) MitoTracke Deep Red FM

标准 1（用于原材料首次采购或无合格对照试剂时的检验）使用标准细胞株 Jurkat，生长密度 90%， 1×10^4 个/ μL ，待检原材料按照一定比例稀释后进行滴度检验，待检原材料 APC 荧光强度值在 $6 \times 10^4 \sim 9 \times 10^4$ 内，与

经可行性研究合格的原材料试剂的 APC 荧光强度值相对偏差在 20%。

标准 2（适用于有合格对照时的检验）

使用新鲜 EDTA 抗凝人外周血（24 小时内），待检原材料按照一定比例稀释后进行滴度检验，并与合格对照 3 个测试结果进行对比，待检原材料与合格对照批探针结果比较，CD3+荧光强度相对偏差小于 30%的为最适浓度。

2) Live or Dead Fixable Dead Cell Staining Kit (NIR)

使用 50mM 碳酰氰-4-三氟甲氧基苯胺(FCCP)处理新鲜 EDTA 抗凝人外周血（24 小时内）样本，待检原材料按照一定比例稀释后进行滴度检验，计算待检试剂与合格对照试剂的相对偏差，选择无 FCCP 处理时，NIR 分群阴阳性明显的浓度，且 FCCP 处理后，相对偏差<20%的浓度为最适浓度点。

3) Rotenone(鱼藤酮)

使用新鲜 EDTA 抗凝人外周血（24 小时内）进行 PBMC 提取，待检原材料按照一定比例稀释后进行滴度检验，待检原材料检测结果与对照检测结果相关性大于 0.8。

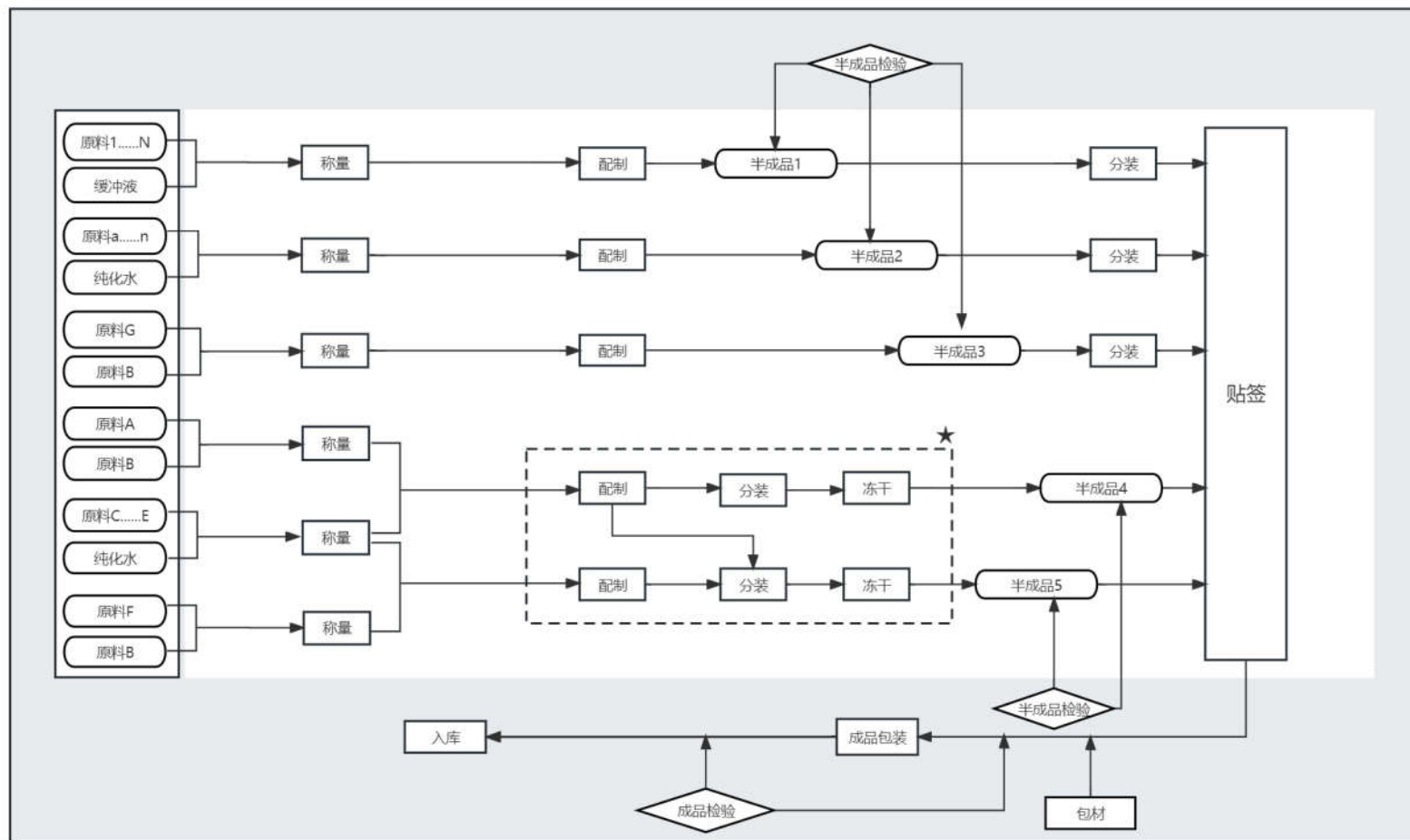
(2) 检验方法

- 1) 分别将待检和对照的原材料进行梯度稀释，梯度稀释后的探针试剂对 Jurkat 细胞或外周血样本进行染色操作，分别比较待检和对照试剂 APC 荧光强度值检测结果，得到待检原材料的最佳浓度值 a (ug/uL)。
- 2) 待检原材料按照一定比例滴度稀释后，使用 50mM FCCP 处理新鲜 EDTA 抗凝人外周血（24 小时内）样本，然后使用待检试剂对样本进行染色，分别比较待检和对照试剂检测结果，得到待检原材料的最佳浓度值 b (uL/测试)。
- 3) 将待检原材料进行梯度稀释，对新鲜 EDTA 抗凝人外周血（24 小时内）提取的 PBMC 样本进行染色，待检原材料检测结果与对照检测结果进行相关性分析，得到待检原材料的最佳稀释浓度点（6 个浓度梯度）。

2. 生产工艺

2.1 生产工艺流程图

CD8+19 FITC/CD3+56 PE/CD45 PC5.5/CD4 PC7/MitoDye/NIR 检测试剂盒（流式细胞仪法）生产工艺流程图



符号说明：



储存



操作



质控



关键工序



洁净区



非洁净区

2.2 关键工艺的质量控制要求

2.2.1 配制过程控制

(1) 配制要求

线粒体探针染色试剂需原材料配制比例准确无误；

(2) 质量控制点

现场 QC 对生产人员试剂加样过程中移液器的调节体积和加样次数进行核对，确保每种试剂的加样总量与理论量一致，并要求吸取液体时枪头无气泡和加样时枪头吹打干净无残留。

2.2.2 混匀及分装过程控制

(1) 配制要求

- 1) 溶液配制均一
- 2) 溶液分装准确

(2) 质量控制点

1) 生产人员在溶解线粒体探针时，加入稀释液后，涡旋混匀 1min，动作轻柔以免气泡产生。在所有试剂都配制完成加入到同一容器中后，开启搅拌器调至中速（或 500r/min）搅拌，搅拌 10min，以保证溶液配制均一。

2) 生产人员在配制好试剂后，分装时注意分液器的调节，分液头中无气泡。分装完成后现场 QC 确认分装管底部分液量(水平液面)一致。

2.2.3 物料平衡

(1) 物料平衡要求

各物料平衡率在可接受范围内。

(2) 质量控制点

生产人员对物料平衡率进行计算，现场 QC 对配制后物料平衡率进行确认，以此进一步确认配制过程中准确无误。

2.2.4 冻干程序控制

(1) 冻干程序要求

放置冻干时，按照操作规程严格控制预冷及开始时间。

(2) 质量控制点

生产人员在配制分装完成后对冻干程序进行确认，冻干试剂冻干开始前，

放置于冻干机中，预冷时间与要求一致。现场 QC 对程序及开启时间进行确认，以此进一步确认冻干过程中准确无误。