

出國報告（出國類別：進修）

白血病及淋巴瘤之白血球表面抗原 檢查相關的最新檢驗方法

服務機關：國立臺灣大學醫學院附設醫院

姓名：吳佳蓉

派赴國家：新加坡

出國期間：107年12月17日至108年2月16日

報告日期：108年4月19日

摘要：

流式細胞技術本身的特性，影響最後數據結果的變因非常多，因此如何針對流式細胞儀分析技術進行品質管理及標準化，使不同的流式細胞儀機臺結果的差異最小化，得到更準確靈敏的分析結果，一直是臨床實驗室值得持續關注的課題。使用 EuroFlow 聯盟所驗證過的標準流程進行血液腫瘤相關的白血球免疫抗原標記檢測及分析為現行最嚴謹且標準化的流程，不管是診斷或微量殘存疾病偵測方面均可提供臨床實驗室準確度及靈敏度更高的分析結果。此次進修最大目標為學習目前最具標準化，高準確度及靈敏度的血液腫瘤的診斷與微量殘存疾病偵測分析所有流程，包括儀器設定、品管程序、檢體處理、數據分析等等，未來提供本院相關檢驗技術資訊並做進一步的發展。

目次

壹、	目的：	1
貳、	過程：	1
一、	進修機構介紹	1
二、	流式細胞儀實驗室：	4
	(一) 指導教授：	4
	(二) 實驗室設備：	4
	(三) 人員：	4
三、	進修內容：	5
	(一) EuroFlow 簡介：	5
	(二) 檢體分析前及分析中：	7
	(三) 檢體分析後的數據處理：	8
參、	心得：	9
肆、	建議事項：	11

壹、 目的：

目前血液腫瘤相關之白血球免疫抗原標記檢查，在全球許多醫學中心，多以 8 色以上的多色螢光抗體，對檢體中白血球不同的免疫抗原進行染色後，以流式細胞儀技術進行分析。本院檢驗醫學部血液檢驗組經過詳細的規劃與測試後，在 2016 年 6 月由原來的 3 色螢光系統升級為 8 色螢光系統，來進行血液腫瘤相關之白血球抗原檢查。由於流式細胞技術本身的特性，影響最後數據結果的變因非常多，舉凡檢體前處理所使用的離心速度、試劑廠牌、抗體組合、儀器條件設定與校調等等，使得同一檢體在不同臨床實驗室，甚至不同流式細胞儀的分析下幾乎無法得到標準化的結果，因此如何針對流式細胞儀分析技術進行品質管理及標準化，使不同的流式細胞儀機臺結果的差異最小化，得到更準確靈敏的分析結果，一直是臨床實驗室值得持續關注的課題。所前往的進修單位，新加坡國立大學醫院 (NUH) 檢驗醫學部血液檢驗組之流式細胞實驗室，在白血球免疫抗原標記檢測方面依循 EuroFlow 聯盟所公告的標準流程進行檢測及分析，此流程為現行在流式細胞技術檢測白血球免疫抗原標記的方法中最嚴謹且標準化的流程，不管是在血液腫瘤的診斷或微量殘存疾病 (Minimal Residual Disease, MRD) 偵測方面均可提供臨床實驗室準確度及靈敏度更高的分析結果。目前在流式細胞技術偵測血液腫瘤相關之白血球免疫抗原標記檢查方面我們只能提供臨床醫師進行診斷使用，至於追蹤及微量殘存疾病的偵測使用上，尚有欠缺。此次進修最大目的為學習目前世界上最具標準化，高準確度及靈敏度的血液腫瘤的診斷與微量殘存疾病偵測分析流程，未來提供本院相關檢驗技術資訊並做進一步的發展。

貳、 過程：

一、 進修機構介紹

新加坡國立大學醫院 (NUH) 位於新加坡肯特崗捷運站出口處，共有 5 棟建物；截至 2018 年全院共有 7808 名員工，病床數為 1239 床。檢驗醫學部 (Department of Laboratory Medicine) 為通過美國病理學會 (CAP)，新加坡認證委員會 (Singapore Accreditation Council, ISO15189)，聯合委員會 (JCI) 的認證實驗室，位於 NUH 主建物 (Main building)，A 廳 (Lobby A) 3 樓，其中血液檢驗組 (Hematology Division) 的流式細胞儀實驗室 (Flow Lab)，為本次進修單位。



NUH 地理位置及建物分布。



主建物（Main building）外觀及大廳。

Figures as at Dec 2018

Beds	1,239*
Staff Strength	7,808

Inpatient Facilities

Wards	45
Delivery Rooms	8
Operating Theatres	32

Outpatient Facilities

Specialist Outpatient Clinics/Centres	41
Specialised Service Centres	18
Offsite Specialist Outpatient Facilities	5

24-hour Emergency Facilities

Accident and Emergency (Adult)	
Children's Emergency	

*Numbers include beds in Delivery Suite, Peds Onco, Short stay surgical ward (W2A)

NUH 人員及設施



檢驗醫學部外觀及內部概觀

二、 流式細胞儀實驗室：

(一) 指導教授：

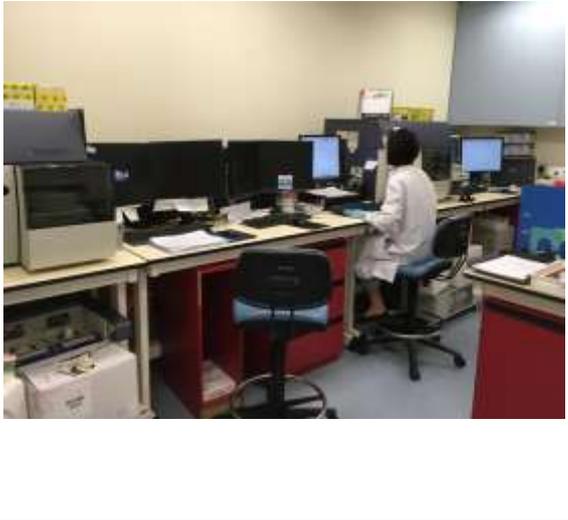
Liu, Te Chih 醫師專精於血液腫瘤診斷、流式細胞技術、凝血功能異常等，為新加坡國立大學醫院檢驗醫學部血液檢驗組的資深總顧問醫師 (Head & Senior Consultant)，也是負責流式細胞儀實驗室，報告分析，複審，發送的資深醫師。同時為新加坡國立大學癌症機構血液腫瘤部門資深顧問醫師及新加坡國立大學 Yong Loo Lin 醫學院病理部兼任助理教授。

(二) 實驗室設備：

主要有 2 臺流式細胞儀 BD FACS Canto II，4 臺伺服器級電腦供分析流式細胞儀數據使用，4 套 Infinicyt 數據分析軟體及其他進行檢體處理之必要儀器設備（離心機，生物安全櫃，冷藏設備等等）。

(三) 人員：

4 名技術人員，2 名醫師負責報告分析及初審，2 名資深醫師負責報告分析，複審及發送，包含指導教授 Liu Te Chih 醫師。

	
2 臺流式細胞儀，BD FACS Canto II。	結果分析及報告發送辦公室，4 臺伺服器級分析電腦。



三、 進修內容：

(一) EuroFlow 簡介：

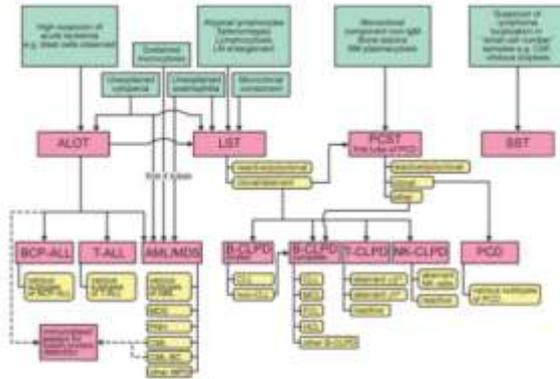
EuroFlow 聯盟 (EuroFlow Consortium) 由多達 20 個診斷研究團體組成，主要目標為建立標準且快速，準確，高敏感度的流式細胞儀檢測技術，以應用於血液腫瘤疾病診斷，預後，評估治療成果，疾病追蹤等方面。為了使流式細胞儀檢測白血球抗原標記的流程及分析結果標準化，並且得到準確及高敏感度的分析結果，EuroFlow 聯盟將所有經聯盟驗證過的品質管理流程，儀器設定，檢體前處理，及所有的試劑，抗體組合等標準化，製作成標準操作流程，放置於 EuroFlow 網站上 (<https://euroflow.org/usr/pub/pub.php>)，公開提供給所有臨床實驗室遵行使用。由於 EuroFlow 聯盟建立了嚴謹且標準化操作流程，不論在血液腫瘤疾病白血球抗原表現偵測的診斷平臺及 MRD 追蹤平臺都有較佳的準確度及靈敏度，使得 EuroFlow 在國際間能見度不斷的升高，依循 EuroFlow 的臨床實驗室也與日俱增。進修單位的流式細胞儀實驗室為了將流式細胞檢測數據及分析結果標準化以得到較佳的準確度及靈敏度，因此使用 EuroFlow 聯盟所建立的分析平臺來進行白血球抗原標記的檢測及分析。實驗室所有的白血球抗原檢測及分析流程，及品質管理，均非常嚴謹的遵循 EuroFlow 聯盟所公告的儀器設定及標準操作流程。



EuroFlow

HOME PARTICIPANTS WORKSHOPS **PROTOCOLS** VIDEO QA PROGRAM PUBLICATIONS MEMBER AREA

Protocols



EuroFlow SOP for Instrument Set-up and Compensation Version 1.1 - 8 June 2018 -



EuroFlow SOP for Instrument set-up and compensation for Navios Instruments Version 1.4 - 28 May 2014 -



EuroFlow Board

Prof. dr. J.J.M. van Dongen (chair)
 Prof. dr. A. Orfeo (co-chair)
 Dr. T. Kalina (treasurer)
 Dr. V.H.J. van der Velden
 Prof. dr. M. Brüggermann
 Prof. dr. J. Mulipp
 Dr. A.E. Sousa

Office Management:
W.H. Eijler

Disclaimer



EuroFlow SOP for Sample Preparation Version 1.4 - 25 June 2018 -



EuroFlow SOP for bulk lysis in MRD panels Version 1.3 - 25 June 2018 -



Composition of EuroFlow panels and technical information on reagents. Version 1.7 - 3 July 2018 -



EuroFlow panel marker list: reference and alternative antibodies. Version 1.10 - 3 July 2018 -



Uniform coding of EuroFlow panels



7th Peak Target Values for Rainbow Beads for lot EAB01, EAC01, EAD01, EAE01, EAF01, EAG01, EAH01, EAI01, EAJ01 and EAK01



EuroFlow guidelines for BM sample collection and transport for MM MRD measurements Version 1.0 - 3 April 2018 -

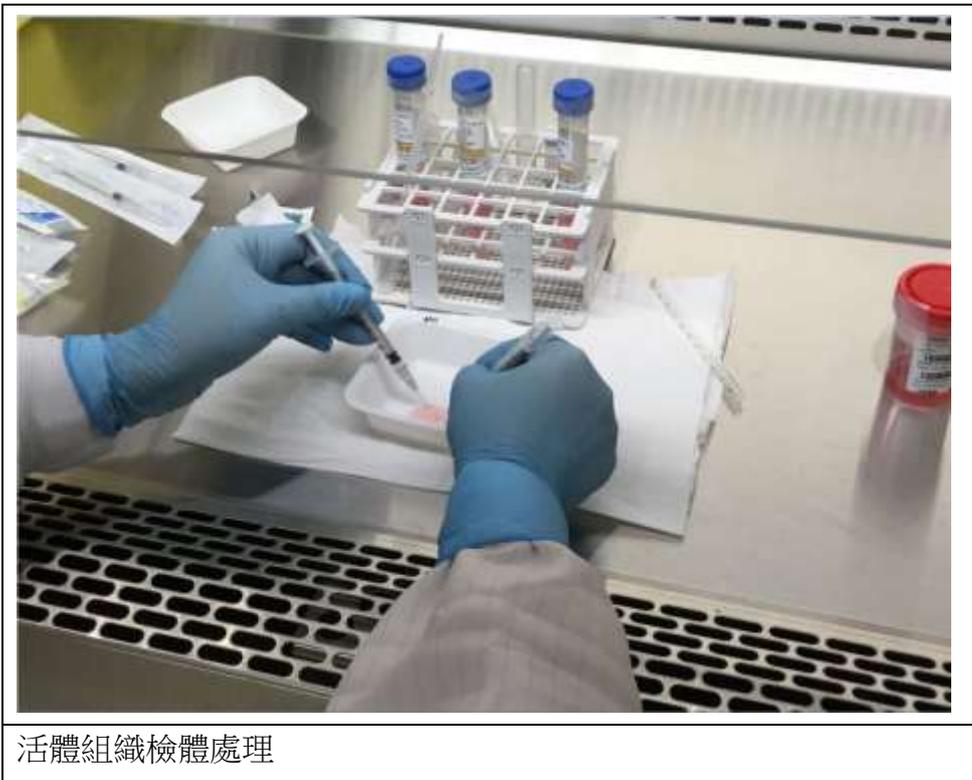


EuroFlow, Registered at the Chamber of Commerce in Rotterdam, NL (No. 69300445)
 v/o Dept. of IHB, Building 1, Postal zone E3-0, Room 101-716, Albinusdreef 2, 2333 ZA Leiden, The Netherlands.
 Copyright 2011-2019 - ESLHO All rights reserved.

EuroFlow 聯盟所公告的儀器設定及標準操作流程。

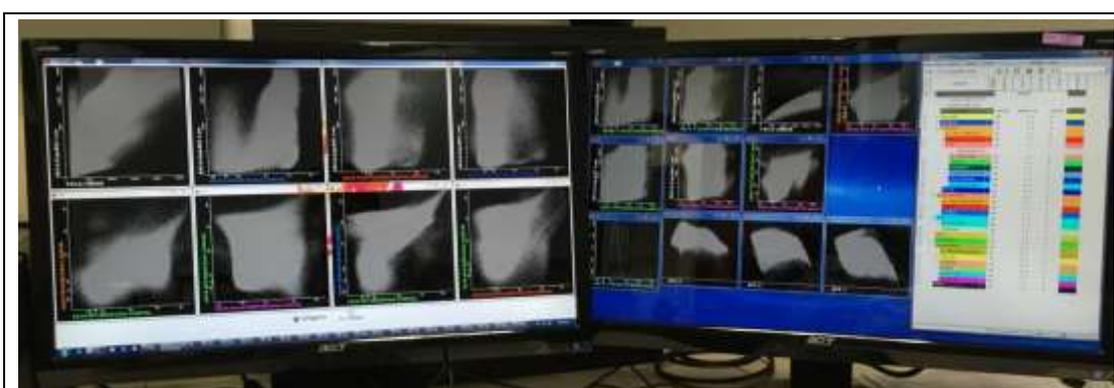
(二) 檢體分析前及分析中：

一開始先閱讀品質管理手冊及標準作業流程，觀察並紀錄技術人員如何依循 EuroFlow 系統，依據不同血液腫瘤疾病的檢測需求進行相異的檢體收集及前處理方式，其他如儀器設定，品質管理（日品管、週品管、月品管等等），上機等所有程序也詳細記錄。比較特別的是進修單位的實驗室檢體類別中有活體組織類的檢體，這是我們目前沒有的檢體類別，而在這類檢體的前處理模式也較為繁瑣，針對此類別的檢體也詳加觀察學習並紀錄處理方法。其他為針對彼此實驗室間技術流程，品管認證上的不同之處及實際遇到的瓶頸進行交流討論，例如靈敏度如何進行驗證等等，相互學習彼此間的優點。學習在 EuroFlow 平臺上，應用在不同的血液腫瘤疾病白血球抗原檢查的抗體組合與現行的抗體組合有何不同之處，並且相互交流討論。



(三) 檢體分析後的數據處理：

Infinicyt 分析軟體為 EuroFlow 聯盟針對 EuroFlow 系統所設計開發，軟體介面友善，操作自由很高，可以將雜訊，或不須分析的細胞族群隱藏，只顯示欲分析的細胞群及其抗原表現，也可以將不同抗體管所得到的數據合併分析，提升數據分析的正確性及靈敏度，甚至可與 EuroFlow 資料庫做比對，也有自動細胞圈選功能可供使用。在 Liu Te Chih 醫師指導下學習如何正確使用，設定 Infinicyt 軟體，來分析數據，應用不同的抗體組合表現模式來正確地將血液腫瘤疾病進行分型或偵測 MRD。



B-ALL MRD 數據分析前

度的報告。目前我們現有的分析軟體無法針對雜訊或是非分析目標的細胞族群進行濾除或隱藏，或針對不同抗體管的數據進行合併分析，也無法將結果送資料庫做比對，因此在數據分析上面的準確性跟靈敏度均不佳，無法提供臨床血液腫瘤的微量殘留疾病的報告。進修期間，不管在檢體處裡、品管、儀器設定、數據分析等都學習到相當不同的標準與概念，盡可能紀錄下所有的觀察到的不同之處，帶回來與大家分享，改進現行的白血球抗原偵測及分析流程，提供臨床更準確及高靈敏度的數據分析結果。

本院與進修單位比較：

人員：

2018 年	本院	NUH
技術人員	1	4
醫師	1	4 (2 名資深醫師，2 名初級醫師)
白血球抗原標記檢測年檢體量	1200	2800

設備：

	本院	NUH
BD FACS Canto II 流式細胞儀	2	2
數據分析軟體	FCS Express 2 套	Infinicyt 4 套
數據分析電腦	0	伺服器 4 臺

品質管理：

	本院	NUH
日品管	CST beads: % difference target value <50.	CST beads: % difference target value <10. Detector volts < 2SD Rainbow beads MFI within 15%.
週品管	無	確認所有試劑 pH7 (+/- 0.2)。 試劑背景值確認 < 300 events。
月品管	管路清洗 (Long clean)。	管路清洗 (Long clean)。 以 Rainbow beads 進行各色螢光強度校正。 螢光補償校正。
抗體品管	新舊抗體確效 (Lot to lot check)。	確認抗體效價。 新舊抗體確效 (Lot to lot check)。
其他		微量殘存疾病偵測之靈敏度驗證。

肆、 建議事項：

EuroFlow 聯盟所提供不管是診斷或微量殘留疾病偵測平臺，操作流程及分析方法，均被該聯盟反覆驗證過，是目前最具標準化的平臺，也符合許多認證上的要求，同時具有高準確性及靈敏度的優點。缺點則在於對於檢體處理流程，採用的抗體組合，抗體及試劑廠牌，等等均無法更動，品管流程也相當繁瑣，在人力、物力上有相當的需求才能建構起 EuroFlow 平臺。目前本院在血液腫瘤疾病相關的白血球抗原偵測方面只能提供醫師診斷平臺，在臨床對偵測微量殘留疾病的需求與日俱增的狀況下，發展微量殘留疾病偵測平臺，以提供臨床高準確性及靈敏度的報告是有必要的，EuroFlow 平臺的建立是未來可發展的方向之一。若在成本方面無法建立 EuroFlow 的平臺，也可以借鏡他們的流程及品質管理模式，來提升我們檢驗結果的準確性與靈敏度。