

专家共识

临床下一代测序的自动化与常规化专家共识

中国生物医学工程学会医学检验工程分会

摘要: 下一代测序(NGS)应用于临床十余年以来,至今尚未能形成成熟的自动化与常规化检测手段。本共识面向临床 NGS 检测的学科和应用,根据临床 NGS 应用的现状,结合国内外相关检测产品、共识规范以及临床的实际需求,针对临床 NGS 自动化与常规化的建设路径,形成专家共识,给出相关建议,旨在推动临床 NGS 技术的进一步推广及应用,提高我国临床 NGS 的整体水平以及为精准医疗服务的效率。

关键词: 临床基因检测;下一代测序;常规化;自动化

中图分类号:R318 文献标志码:A 文章编号:0258-8021(2023)06-0641-10

Chinese Expert Consensus on Automation and Routine Sequencing of Next-Generation Sequencing in Clinical Practice

Laboratory Medicine Engineering Branch of Chinese Society of Biomedical Engineering

Abstract: The matured automatically and routinely detection methods have not been generated since the over decade application of next-generation sequencing (NGS) in clinical practice. This consensus is oriented to the disciplines and applications of clinical NGS testing and provided relevant advices of constructing automatically and routinely path of clinical NGS, which was based on the current clinical application states and combined related testing products, consensus specifications and actual clinical demands from domestic and abroad. The consensus aimed at spreading the application, and promoting the entire level and the efficiency of precision medical services of clinical NGS in China.

Key words: clinical genetic testing; next-generation sequencing; automatization

引言

下一代测序(next-generation sequencing, NGS)技术与传统的分子检测技术相比,以高通量、低成本和靶标广泛的优势而快速发展,从 2011 年开始应用于临床并逐步深入,特别是在无创产前诊断(non-invasive prenatal diagnosis, NIPT)、新生儿筛查、罕见病辅助诊断、感染病原体的鉴定、肿瘤分型、肿瘤靶向药物筛查和伴随诊断等方面发展迅速^[1-5]。但除 NIPT,对于临床医疗的很多需求,NGS 尚未形成成熟的常规化检测手段,NGS 应用的临床覆盖范围也远低于预期,其核心原因之一是自动化程度不足以及常规化体系不完善^[6]。本共识从技术及应用角度探讨临床 NGS 自动化与常规化的路径,旨在推动 NGS 技术加速发展以及进一步加大临床应用范围,

普惠临床患者,提升临床服务效率和创新体系。

1 临床 NGS 自动化与常规化的需求

1.1 临床 NGS 的优势

随着 NGS 技术的迭代、民生健康筛查工程的推出以及新冠病毒核酸检测的市场教育,NGS 在临床中的应用逐步深入并展现出广阔的前景,其应用包括癌症等疾病相关的致病机制及遗传基础研究、孕前及产前筛查、辅助生殖的胚胎植入前筛查、遗传病诊断、肿瘤早筛、肿瘤伴随诊断、肿瘤复发监测和感染病原体的鉴定等^[2,4,7-10]。2014 年,国家食品药品监督管理总局(China Food and Drug Administration, CFDA)批准了首个临床 NGS 产品——来自华大基因的无创产前基因检测产品 NIFTY(non-invasive fetal trisomy test, NIFTY)^[11]。

doi: 10.3969/j.issn.0258-8021.2023.06.001

收稿日期:2023-03-21, 录用日期:2023-05-03

*通信作者(Corresponding author), E-mail: kangxxtt@sina.com

2020年,国家药品监督管理局(National Medical Products Administration, NMPA, 前称CFDA)批准了首个基于NGS的胚胎植入前遗传学检测产品——来自贝康医疗的植入前染色体非整倍体检测试剂盒。

近年来,各国陆续发布了临床NGS应用的相关指南,涵盖了遗传性疾病、肿瘤、感染性疾病和生物信息流程等^[12]方面。2015年,欧盟人类遗传学会发布了“NGS诊断指南”;2016年,美国食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)发布了“基于NGS的遗传性疾病体外诊断指南”;2017年,美国分子病理学会(Association for Molecular Pathology, AMP)与美国病理学院(College of American Pathologists, CAP)组织相关方制定并发布了“NGS生物信息流程验证标准和指南”^[13]。

近年来,中国临床基因检测的需求和产业驱动,使相关行业共识的发布逐年增多。2018年,中国妇幼保健协会与中国医师协会组织并编写了“胚胎植入前遗传学诊断/筛查技术专家共识”,将NGS作为重要检测方法之一纳入共识^[14];2019年,中国临床肿瘤学会(Chinese Society of Clinical Oncology, CSCO)发布的“2019 CSCO乳腺癌诊疗指南”中新增了NGS的相关内容^[15];2020年,《中华传染病杂志》编辑委员会发布了“中国宏基因组学第二代测序技术检测感染病原体的临床应用专家共识”^[16]。《中华医学遗传学杂志》于2018年、2020年分别发布了“临床基因检测报告规范与基因检测行业共识探讨”和“遗传病二代测序临床检测全流程规范化共识探讨”等系列共识^[17-22]。

相对于其他传统的分子诊断方法,NGS是临床分子诊断的有力工具,主要体现在以下几个方面:

1) 通量灵活。根据不同的临床场景可以有不同的通量选择,即每次运行可以生成不同规模的NGS数据。市面上主流的NGS测序平台,可以低至6~7.5 GB(例如Thermo Fisher的S5及Illumina的Miseq Dx),也可以高达6 TB(例如Illumina的Novaseq6000及华大智造的DNBSEQ-T7)。

2) 成本低廉。自2001年至2014年的14年间,人类全基因组测序成本从10亿美元下降至约1000美元;2020年至2022年,进一步降至数百美元。测序成本的下降速度超过了“摩尔定律”定义的半导体领域成本下降速度,即被业界称之为“超摩尔定律”。目前每1 Mb DNA序列的测序成本低于0.01美元。

3) 靶标广泛。NGS可以同时多种核酸靶标进行检测,尤其是对小片段的基因变异检测(包括插入和缺失等)具有显著优势,也可以对所有已知基因序列的病原微生物进行无偏倚的测序。

2017年,FDA正式批准了首个基于NGS的泛肿瘤基因检测,即纪念斯隆-凯特琳癌症研究中心(Memorial Sloan Kettering Cancer Counseling Center, MSK)的癌症基因检测分析平台MSK-IMPACT™,其可快速检测与癌症相关的468个基因上的所有蛋白质编码变异、拷贝数变异、启动子变异以及结构重排^[23];同年FDA批准了首个基于NGS的伴随诊断检测,即Thermo Fisher的Oncomine Dx Target Test。

2019年,我国批准了首个基于NGS的癌症多基因伴随诊断检测试剂盒,即燃石医学的“人表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)/间变性淋巴瘤激酶(anaplastic lymphoma kinase, ALK)/原癌基因和丝氨酸/苏氨酸激酶(B-Raf proto-oncogene, BRAF)/大鼠肉瘤病毒癌基因同源物(kirsten rat sarcoma viral oncogene, KRAS)基因突变联合检测试剂盒(可逆末端终止测序法)”。直到2022年,后续批准的10余个伴随诊断试剂盒基本围绕非小细胞肺癌的4~9个热点基因,相对美国的数百个基因和泛癌种检测,仍有很大差距^[24-25]。

2019年,新型冠状病毒的菌株鉴定和溯源得益于宏基因组二代测序(metagenomic next-generation sequencing, mNGS)技术在临床上的成功开展,即通过高通量测序对病原实现一次性、免培养和高精度的快速检测,在发现新型病原微生物及其变异株方面发挥了关键作用^[26-28]。

NGS是当前遗传检测的主流技术平台^[29-30]。目前在临床基因检测中,除了基于全外显子组测序的遗传病检测,基于NGS技术的携带者筛查、产前筛查和新生儿筛查也已得到了广泛应用或在快速推广中。此外,NGS技术的出现使得ctDNA(circulating tumor DNA, ctDNA)检测技术更加成熟,已成为目前液体活检早筛的主流技术平台。NGS技术在生成了全基因组层面的数据后,只需要通过优化模型算法,对不同的特征进行排列组合,即可完成换代升级。因此,NGS检测技术在肿瘤早筛产品可拓展性方面的优势也在不断凸显。

1.2 目前临床NGS的局限

尽管NGS已成熟应用于遗传病检测、NIPT、肿瘤伴随诊断、胚胎植入前筛查以及感染病原体鉴定

等临床领域,但是成熟且普及的应用屈指可数,使 NGS 在临床上覆盖范围远低于市场预期。其原因除存在市场不确定的环境因素外,主要还是 NGS 的临床价值和经济价值尚未得到更大程度的挖掘,关键影响因素之一是自动化程度低,包括:

- 1) 实验环节冗长,导致难以规范化,例如样本采集、核酸提取和建库等。
- 2) 手工操作步骤多,检测周期较长。
- 3) 生物信息分析未标准化。
- 4) 数据解读依赖人工。
- 5) 数据管理繁杂,数据挖掘不充分。

2 临床 NGS 常规化与自动化

为了更好地加速 NGS 技术在临床中的应用,进一步扩大应用范围,本共识从技术、流程及产品角度着重探讨临床 NGS 常规化与自动化的建设路径,包括:

- 1) 规范化采样。
- 2) 自动化核酸提取纯化和建库。
- 3) 更灵活的基因测序系统。
- 4) 生物信息分析自动化以及参考数据库建设。
- 5) 临床 NGS 数据解读和遗传咨询常规化。
- 6) 整合临床 NGS 结果、表型信息到医疗信息化系统。
- 7) 实验室自建项目(laboratory developed tests, LDT)和体外诊断试剂(in vitro diagnostic products, IVD)的并存发展。
- 8) 降低和分摊 NGS 成本,使其纳入医保。
- 9) 加强医患培训和科普教育。
- 10) 建立数据安全管理和合规利用规范。

2.1 规范化采样

所指样本包括体液(血液、痰液和胸腹水等)、组织(肿瘤组织,病原组织等)和表皮拭子。规范化采样包括:1)根据采样方式分为自动化采样和人工采样;2)依据采样地点分为院内采样和院外采样(居家和社会采样点等)。

2.1.1 自动化采样

针对具有传染性的样本,首先必须从源头上减少采样人员和医护人员与被检测对象的交叉感染风险,其次建立大规模高通量的自动化样本采集的路径。自动化采样过程通常集成了光学字符识别、自动化收集、封装和保存等环节。已在用的相关设备的主要缺点是需应对多部位采样,采样耗时长,用户体验差。当前市场还没有量产且成熟的样本

自动采样的设备。这是亟待创新和突破的基础环节之一。

2.1.2 居家自采样

居家自采样工具简单、快捷且样本易于保存,充分拓展了 NGS 等技术的应用场景。以唾液采集器为例,FDA 批准的临床 NGS 居家自采样工具 ORAgene[®] DNA 唾液采集器,已完成超过 200 万例样本采集。国内厂商也研发了不同类型的居家自采样器,价格远低于早期海外的同类产品,包括唾液采集器、粪便采集器(用于结直肠癌早诊)、人乳头瘤病毒(human papillomavirus, HPV)自采样器以及宫颈阴道自检取样仪(用于宫颈癌的筛查)。目前国内居家自采样器在技术研发和规范上还在不断完善中,获得 NMPA 批准的产品较少。

2.1.3 院内采样

对于临床组织样本或血液样本,需要在院内完成采集并进行质控。建议培养专们的医生、护士或遗传咨询师,进行样本规范采集和初步判断,随后暂存及转运至实验室,并对剩余样本进行保存和管理以及进行后续的遗传咨询闭环辅助工作。

采样除了需要考虑便捷、高效和规范,质量控制是非常重要的环节,其中最主要的是防止样本污染与混淆,例如采用内置识别码的采样管解决身份识别的自动化和一致性。

共识 1:规范化采样是临床 NGS 常规化的基础,实现自动化采样是重点,是持续降低采样时间和成本并提高用户体验的手段。目前,居家自采样仅适用于表皮拭子和唾液采集;院内采样建议培训专们的医生、护士或遗传咨询师进行样本的规范采集、保存转运以及人类遗传资源的合规管理等操作。

2.2 自动化核酸提取纯化和建库

核酸提取纯化和建库是临床基因检测流程中自动化较为成熟的环节之一。

核酸提取是指用物理、化学或生物酶的方法,将样本的核酸进行释放、提取和纯化的过程。在保证核酸双链结构完整性的前提下,排除其他分子的污染,确保核酸的浓度和纯度,以满足建库的要求^[31]。目前磁珠分离法是应用最广和自动化条件最为成熟的方法。

NGS 常规建库是指在提取核酸后,进行酶切片段化、接头连接、纯化和扩增等步骤;如果是靶向捕获建库还需要进行杂交、捕获和洗脱等步骤。建库的步骤繁杂且耗时长,严重影响了 NGS 检测规范化的步伐,因此简化建库步骤可缩短建库时间,这是

规范建库的首要任务。

NGS 自动化建库主要是由多步分子生物学酶反应、核酸片段大小筛选或纯化以及文库定量归一化混样等过程构成^[32-34]。一些建库方法还涉及到基于磁珠的片段捕获流程等。

2.2.1 酶反应

通常由手工或机器配置预混液,再由自动化设备向样品添加预混液。这需要自动化设备具备小体积和高精度加样能力,确保样品反应之间的一致性和实验批次间的重复性,同时需保证准确一致的反应时间。对于集成热循环仪的自动化设备,其软件应能实现可靠的整合与控制。

2.2.2 片段大小筛选

建库过程中涉及多次片段纯化和片段大小筛选。片段筛选实验的稳定性和一致性是保证批次内/间文库重复性的基础,而文库片段大小可能直接影响测序的效率和质量。

2.2.3 文库均一化和混库自动化

通常导入加样表单,由自动化设备读取表单中各待加样品和稀释液应加加样的体积信息,并由多通道加样器自动执行对应体积的液体转移、吹洗及混匀。对于自动化集成程度高且数据处理能力强的系统还可集成核酸定量分析设备。

2.2.4 杂交捕获

自动化杂交捕获的实验流程长且条件要求高,需要控制准确的杂交条件和洗涤液温度以及严格的磁珠洗涤移液条件,是 NGS 流程中对自动化程度挑战较大的部分。如涉及杂交捕获测序,自动化系统则应具备准确的温度控制模块,以及充分且精细的热洗移液条件。如涉及混库的浓缩,则应集成具备浓缩功能的模块或设备。

2.2.5 建库全自动一体机

除前述自动化工作平台,针对样品需快速实验周转且在中低通量实验室操作的情况,因每批次只需处理几个到数十个不等样品,所以全自动建库系统内置的自动化单元应适配主流的建库试剂盒甚至是兼容的手工使用的商品化建库试剂盒,而无需额外的移液、转管和配预混液。

目前,临床 NGS 的核酸提取自动化设备已逐步成熟,包括:罗氏诊断的 MagNA Pure、锐翌生物的自动化样本前处理工作站以及杰毅生物的 NGSmaster 自动建库仪等。自动化建库的代表设备包括两类:以移液法为基础的自动化建库设备,如安捷伦 Magnis 和华大智造 MGISP 100;以样本封闭自动化

建库法为基础的自动化建库设备,如思路迪 ANDiS。自动化核酸提取纯化和建库一体化设备将成为主流,如华大智造的 MGIFLP-L50 系列。在病原体 mNGS 建库方面,微岩医学的 PathoLab 系统和杰毅生物的 NGSmaster™ 系统具有代表性。自动化建库系统的确可以提升效率,但其应用场景的兼容性亟待提高,如国产的自动化平台往往局限于部分场景或特定几个环节,需要进一步拓展至全流程和扩大适配范围。建库过程中的 DNA 片段化主要包括物理法和酶切法两种,核心指标是偏好性、稳定性和及时质控,这是实现 DNA 提取纯化和建库一体化的关键节点,也是亟待形成规范化的关键节点。当前,各机构的自动化建库流程均有所不同,其流程参数也缺乏规范指导,比如吸放液体积、速度、残余体积、离心转速、震荡速度、升降温速度、交叉污染的检测方法、冷凝水和体系蒸发控制等,因此亟需建立规范,在不同建库流程间建立一致性评判标准,包括捕获建库与多重 PCR 建库以及自动建库与人工建库等。

共识 2: 目前核酸提取纯化和建库的自动化程度已相对较高,未来需进一步提高其便捷度和降低操作周期,以及进一步提高在质检、杂交和洗脱试剂及耗材准备等方面的自动化水平,提高一体化程度并拓展适用范围,进一步将临床基因检测各环节有机整合。同时,还需要在不同建库流程间构建一致性评判标准。

2.3 更灵活的基因测序系统

基因测序是临床 NGS 的最重要环节之一,即将制备好的样本文库通过测序仪解析样本的 DNA 或 RNA,获得 DNA 或 RNA 序列的排布顺序文件。

NGS 发展十余年以来,自动化和集成化的程度不断提高,未来自动化程度的进一步提升有赖于有机整合核酸提取、纯化和建库等相关流程,并减少自动化和集成化系统中冗余体积和死体积带来的成本浪费。除了自动化系统,基因测序常规化的成本降低仍依赖于成本控制以及样本起始量和检测通量的规模,2016 年以后的成本下降速度趋缓。目前的测序成本仍是阻碍其进入医保和临床常规化关键的障碍因素之一。

测序的成本与通量相关,然而高测序通量虽降低了检测成本,但限制了少量样本的常规测序,这也是目前在高通量测序设备及其试剂研发中面临需要权衡的重要问题。另一方面,高起始量限制了部分样本测序的可能性,如肿瘤液体活检样本的突

变等位基因的检测,因其含量很低,对于测序技术灵敏度的要求更高,无法在高通量系统进行检测,使得相关测序成本上升。目前出现的一些新技术,如阅尔基因的基于 PCR 的抑制探针置换扩增 (blocker displacement amplification, BDA),可以通过选择性放大突变等位基因,在提高检测灵敏度的同时大幅降低测序数据量,从而减少测序成本和缩短检测时间,有利于整合自动化操作,这是未来发展的取向。当前,尽管测序周期有所缩短,但仍不能满足感染和肿瘤等急重症患者的临床需求^[35-36]。

为了减少科室人员操作培训的复杂性,降低人为误差导致的结果不稳定性,临床上需要更加灵活的 NGS 测序平台,以便实现干湿实验自动化,文库构建、测序和数据分析集成化,降低分子检测分区的要求,减少对检测人员值守的需求。另外,考虑到不同检测项目以及不同医院样本量的差异,通量的灵活性也是必须要考虑的因素^[37]。这方面 Thermo Fisher 新上市的 Genexus 的设计较为贴近临床,能够单台机器同时运行不同的疾病检测类型,是值得借鉴的方向。

适配多种通量试剂的单台仪器,可以在无需等待凑样和单样本价格可控的层面,实现院内样本的快速检测;未来,占地更少、操作更简单、检测周期更短、试剂耗材模块化、生物信息分析自动化、软硬件集成以及湿实验与干实验全自动化的 NGS 平台将极大促进临床 NGS 常规化。

共识 3: 临床 NGS 应用实现常规化,亟需更灵活的基因测序系统,包括灵活的通量、更低的起始量、更短的检测周期以及不同工作流程模块的集成。同时,测序仪与自动化核酸提取纯化和建库设备的有机整合是未来临床 NGS 常规化的趋势和必备的硬件基础设施。

2.4 生物信息分析自动化及参考数据库建设

广义的生物信息是一门交叉学科和技术,这里说的狭义生物信息分析是指通过生物信息学方法和工具(主要包括软件和参考数据库等)来分析基因测序数据,主要包括数据预处理、计算、注释、统计、数据挖掘及可视化等^[38]。

当前,针对 NGS 基因数据的生物信息分析,可以初步分为三大部分:

1) 一级分析(基础分析): 基因序列生产,包括测序仪的信号分析、碱基确认和碱基质量评估,产生读长 (reads), 输出 FASTQ 等相关结果文件。

2) 二级分析(初级分析): 基因序列比对等初级

处理,包括将测序数据去除重复序列,与参考数据或数据库进行比对、变异检测和对基因/位点进行初步的功能注释等。

3) 三级分析(高级分析): 通过家系分析、表型和功能注释等证据,对候选变异基因/位点进一步过滤、分类和功能分析等。

生物信息分析的自动化主要是将生物信息工具(包括软件和参考数据库等)串联(包括部分并联)到管道 (pipeline) 中,形成可重复执行的工作流程,使得输入特定对象的数据,可准确且快捷地输出结果。

经过 2010 年、2015 年前后两个阶段的加速,目前生物信息分析自动化处于中期发展阶段,业内成熟的产品包括:以 GATK (Genome Analysis ToolKit) 等代表性的管道包、以 Nextflow 为代表的面向流程语言、Ingenuity Systems (被 QIAGEN 收购) 商用封闭系统、DNAnexus 等商用开放系统、Galaxy (<http://www.bioinformatics.nl/galaxy>) 公共平台、BGI Online 及 BaseSpace 等基因云平台等。

但到目前为止,生物信息分析自动化及其云平台仍未完全成熟和普及,原因包括:

1) 由于生物信息分析方法尚未标准化,如参考数据库版本以及软件的类型、版本和参数等,且分析环节众多,使得质控点不方便设计,很多分析结果也难以重现;

2) 由于研发投入及市场等原因,生物信息自动化目前多集中在封闭式商用系统中,其兼容性不足;

3) 由于单宽带传输的限制,使得批量数据的处理难以高效实现;

4) 由于网络带来的数据安全性问题,即网络传输和云分析可能存在数据泄露风险以及患者隐私泄露风险,因此本地化分析可降低这两类风险,但仍需付出大量精力定期更新数据库和分析软件,两者尚未能有效平衡;

5) 由于在法律法规层面,对患者知情权以及数据确权尚未规范,因此不同来源的数据间难以实现共享,非常不利于数据库的建立以及生物信息分析的标准化与自动化,尚需要宏观上来完善和协调;

6) 由于国内尚缺少公共通用数据库,因此不利于适合中国人群的新基因变异的发现和应用。而且由于科研与临床循证证据的更新频繁,使得自动化技术难以做到实时更新来满足临床的具体需求。

生物信息分析的自动化是临床 NGS 常规化的重中之重,实现这一目标的基础条件包括:技术规

范、适用于海量数据处理的软件工具、各相关节点间的质控、构建权威数据库、开放兼容的计算平台、5G等快速传输技术以及数据安全体系等成熟基础设施。

实现临床生物信息处理的自动化,应逐步考虑实现对疾病信息、检测对象和检测试剂盒进行分类、分级和分层。如不分析未报道过的变异,便于缺乏生物信息分析能力的二三级医院进行标准化使用。针对专业人员匮乏的现状,应充分开发生物信息自动化分析系统,努力降低对相关专业人员的依赖,促进 NGS 在更多医院的应用。

在大力推动生物信息分析自动化及其云平台化的同时,也要注意保护数据的安全性、真实性和有效性。在存储数据的同时,还要注重配置合规进行数据深度挖掘的接口,以及提高基因型和表型的数据融合及协作,包括结合临床表型、家系以及其他表型信息,来解读一些已经检测到但尚不明意义的基因变异。

共识 4: 物信息分析自动化需建立不同样本类型及分析场景的规范及标准,并扩展分析工具对不同数据类型的兼容,形成即可独立分析的管道,又可组装至自动化系统的分析流程;此外,需建立普遍适用且可定期更新的参考数据库并建立版本控制。在对大规模数据分析时,需配备对应的网络传输工具以及数据管理架构,形成有效的协作空间。

未来的必然趋势将是生物信息分析自动化流程以及可定制化界面综合嵌入全自动化测序系统,同时实现可选本地或云端的储存模式,但前提是切实保障数据安全和信息隐私。

基于部分医院科室空间紧张和专业人才不足的情况,需加速构建集成文库以及测序和数据分析一体化的 NGS 系统,以便努力降低对分子检测分区空间的要求和对专业人才的需求,最大程度地缩短检测周期,为临床医患及时提供基因检测报告。

生物信息处理模块化是仍将是降低临床 NGS 成本的关键;由于临床应用包含许多个性化检测需求,因此需考虑开发更友好的用户协作平台以及低代码架构。

2.5 临床 NGS 数据解读和遗传咨询常规化

临床 NGS 的数据解读是生物信息工程师与医生和患者之间的桥梁,是向患者就特定疾病的病因、遗传方式、诊断、治疗、预后、复发风险和后代生育健康等问题给予答复的服务,是向咨询者提供做决定所需的关键信息。担任这一桥梁的角色是临

床遗传咨询团队,严格地说包括四类专家:临床类的临床遗传医师(具有处方权)、实验室类的临床实验室遗传学家(具有签发临床遗传检测报告权)、分子病理实验室遗传学家(具有签发分子遗传病理检测报告权)以及遗传咨询师(参与检测前和检测后的遗传咨询及遗传检测报告的解读)。

美国的遗传咨询自 20 世纪 80 年代初期开始,至今已经逐渐形成了包括学位教育、专业资格认定、继续教育和培训考核在内的较为完善的体系。目前我国的遗传咨询仍在起步状态,尚未形成职业教育和基础规范,行业人才缺口巨大。

与此同时,当前临床 NGS 检测仍存在大量难以解释的遗传数据。NGS 数据解读的不充分和不规范,使得患者的基因检测难以体现价值甚至贻误病情,严重阻碍临床 NGS 应用和行业发展。为了提高对遗传数据的解读能力,为临床决策提供更有意义的信息,建议建立遗传咨询远程多学科诊疗(multidisciplinary care, MDT)平台,还可以利用网络平台和标准化生物信息流程对数据进行深入挖掘分析,提高报告解读的标准性和完整性,提高专业人员的工作效率,但前提是所有操作均需要注重保护患者的隐私和遗传资源的安全。

另外,针对不同类型的情况,比如热点常见、已知变异、罕见变异以及未知变异均需要遗传咨询人员不同深度的参与。未来通过不断地积累和完善,针对某些位点生成一些规范化的咨询模版,将有助于临床 NGS 自动化报告系统产品的推广。

共识 5: 临床 NGS 检测前/检测后的遗传咨询是有效利用 NGS 数据并服务患者的必要环节。我国需要尽快健全遗传咨询师的培养、培训和认证体系,将临床 NGS 纳入医院信息系统,鼓励医院设置遗传咨询师岗位,发挥遗传咨询师在科室团队中的作用。同时,促进遗传咨询远程会诊平台的建设,推动开发权威的标准化在线决策支持平台,加强报告解读过程的自动化。对于部分无需深度遗传咨询的疾病检测,可建立自动化报告系统产品来辅助医生提高效率。

2.6 整合临床 NGS 结果和表型信息至医疗信息化系统

临床 NGS 结果是患者的个人信息,也是群体公共卫生的参考信息,将临床 NGS 结果、患者表型信息(基于人体表型本体数据库)与医院信息系统(hospital information systems, HIS)、电子健康记录(electronic health records, EHR)等进行结构化整

合,未来,进一步将临床诊疗数据、病理数据、检验数据、分子检测数据、表型数据和随访数据有机融合,可充分地利用医疗大数据进行基础研究和临床诊疗,让患者享受大数据时代带来的巨大获益,有助于遗传咨询体系的完善和个人医疗数据的保存,为患者及家属提供更为全面的个体化诊疗支持和遗传信息^[8,39]。但是,信息安全和患者隐私必须充分保护,以及患者知情同意书必须完备,并且对相关数据严格限制访问权限。

在实现以上步骤的常规化与自动化后,将临床 NGS 的结果报告以数字化的方式分发给医生和患者,将有助于提高诊疗效率。新冠核酸检测报告的分发提供了很好的技术示范,未来可辅以数据可视化以及数据管理等功能,在临床 NGS 报告分发中应用。在数字化的结果报告中应注意主次分明,结果说明应简洁明了,使患者和医生能一目了然,有助于理解 NGS 检测的意义。

与新冠核酸检测报告不同的是,肿瘤基因检测和遗传病基因检测的报告在格式上和内容上更为复杂。由于各检测项目在内容和结果的体现上存在一定差异,因此标准化和规范化的报告格式和结果说明不仅有利于报告的解读,也有利于将报告数字化和格式化,更便于在系统中存储、提取和可视化应用。

共识 6:将临床 NGS 报告通过数字化平台分发,可提高诊疗协作效率,有利于数据报告的迭代优化,未来可辅以数据可视化及数据管理等功能;将临床 NGS 结果与 HIS 和 EHR 有机融合,提高诊断效率,提高临床科研便捷性,有助于遗传咨询体系的完善和个人及群体遗传资源的保护,从长远角度将更有利于推动建立真正的数字化医疗健康基础设施。

2.7 LDT 和 IVD 并存发展

IVD 和 LDT 是目前临床 NGS 服务的两种方式。

因为有较为完善的临床试验和生产质量监督法规体系,目前 IVD 获得了更多的临床青睐。但由于 NGS 技术仍在发展中,且疾病与基因关联的医学询证也在不断更新中,因而缺乏足够的法规支持,导致实际情况是更多检测采用了 LDT 服务。

IVD 的显著特点是产品标准化及配备规范化,在不同医院之间对检测结果的一致性容易判定。由于近千万元级别的研发成本和较长研发周期的压力,IVD 方式更适合于中大规模的 NGS 技术转化及临床应用,当前满足相应技术标准的国产设备和

试剂的研发受政策鼓励;LDT 虽然开发过程更为灵活,但相比 IVD 项目申报需要更长时间和更多资源,如在政策指南的规范下,LDT 可以迅速将科学成果转化成为临床应用。

共识 7:IVD 和 LDT 是未来临床 NGS 服务并存的两种方式,建议出台政策鼓励和加速不同病种的 IVD 产品研发;建议加速出台促进 LDT 的政策、规范及行业指南,鼓励基于 NGS 的创新应用,推动更多有效的 NGS 技术普及临床,服务大众。

2.8 降低和分摊 NGS 成本,促进其加速进入医保

近 6 年来 NGS 成本下降速度缓慢,其因是受制于仪器平台在商业市场的竞争充分性不足。为能使其面向民生健康筛查工程和更大的市场应用,需要对 NGS 进一步优化系统和降低成本。当未来迈向全基因组测序成本 100 美元的里程碑时,将大大推动临床 NGS 常规化,并推动其进入医保。

除技术优化外,建议将新型分子靶向药物的开发与临床 NGS 相结合,这将有效扩大临床 NGS 应用的患者数量,形成成本分摊,患者和医保的压力降低的有利局面。除医保外,还建议将 NGS 技术相关临床检测纳入商业保险范畴或者开放商业保险与 NGS 的产品合作,共同解决存在的壁垒,如对重疾险患者的疾病风险评估、住院患者商业保险报销界定等,可有效分担医保压力。可喜的是近年来,国产试剂及设备发展迅速,整体推动了设备领域的良性发展,为有效降低整体成本奠定了基础。

共识 8:降低成本是关键。建议通过提升测序技术和优化检测流程实现降低 NGS 的应用成本;与此同时,促进 NGS 进入医保,以及推动社保和商业保险参与,鼓励新药研发与临床诊疗结合,拓展分摊 NGS 成本的途径。

2.9 加强医患培训和 NGS 科普教育

NGS 作为新兴技术,对于医患均有一定的认知难度。目前大部分医生对临床 NGS 产品的选择多集中在 NMPA 批准的为数不多的几种产品或知名厂商的产品。因此,需要通过加强临床医生和医生助理的系列性专业培训,有效提高其对先进产品的认识理解和鉴别能力,有效提高临床 NGS 技术的利用效率。更重要的是,建议通过制定相关行业标准和专家共识,为临床合理选择 NGS 技术及产品提供可靠且权威的依据。

推进开具临床 NGS 检测处方和促进开展遗传咨询,这需患者对处方选择的理解和支持,以及确实存在支付意愿。为使患者及家属获得对 NGS 检

测服务的良好体验,建议建立支持体系,对相关人群及特定患者进行科普教育,提高公众认知。建议细化检测操作流程,特别是针对受检者及监护人告知程序,如处方前,向受检者/监护人介绍事前准备、事中过程和检测内容、意义及风险,协助其签署基因检测知情同意书;采集前核对受检者信息和按医嘱准备情况。总之建议相关行业机构为推动检测的常规化,面向相关受众主动宣教和发布 NGS 检测的指导意见。

在专业化培训方面,由于遗传病检测过程中最易出现问题的节点是临床医生提供的表型信息与基因数据变异分析的连接和对应,建议基于信息化平台,加强在临床推广表型术语的规范使用,同时加强医生助理和遗传咨询的人员培训。

共识 9:加强宣教是基础。推进临床 NGS 的常规化,应将加强开展专业技术人员培训以及对患者及家属进行科普教育作为基础。同时,加强相关人员对临床 NGS 结果和规范的理解和使用,这有助于缓解当前专业人员极度匮乏的现状。

2.10 建立数据安全管理和利用的规范

《中华人民共和国人类遗传资源管理条例》已于 2019 年 7 月 1 日起施行^[40]。将人类遗传资源管理上升至国家行政法规的高度,特别是通过了涉及数据安全的行政审批程序和国际合作临床试验的备案方式,规范了遗传资源的采集和保藏程序,体现了国家层面的高度重视,因此相关的科研、临床及开发活动必须严格按照法规进行;此外,数据安全管理和合规利用在规范层面和操作层面仍有待完善和监管,数据的隐私保护仍有待重视和加强,数据价值的利用仍有待挖掘和拓展。《中华人民共和国数据安全法》已于 2021 年 9 月 1 日起施行,提出在规范数据处理活动和保障数据安全的同时促进数据的开发和利用^[41-42],为数据开发利用提供了法律依据。

在临床 NGS 的全流程中,涉及多种类型、大量且非常敏感的基因数据,包括:

- 1) 测序获得的 DNA 序列。文本格式,一个样本的数据大小从数 MB 到数百 GB 不等。
- 2) 生物信息分析过程中产生的中间数据。二进制文件、文本及图片等格式,一个样本数据的大小从数 MB 到数 TB 不等。
- 3) 基因报告文件。包括电子版(含文本和图片)和纸质版,通常为不超过 10 页的文档。
- 4) 用户个人信息及基因检测结果等隐私数据。

针对临床 NGS 数据的安全管理,通过人类遗传资源的行政审批和备案方式,在宏观层面得到了有效保障,但在数据产生的过程层面,特别是产生过程中对于用户数据隐私保护方面仍缺乏规范化和体系化管理,特别是有效监管程序。以此同时,海量的临床 NGS 数据对于基础研究、公共卫生和新药研发均具有极大价值,只过度保护而不加以合理利用,势必影响科技进步和产业发展,进而影响临床应用的推进。因此,建议在数据安全和隐私保护的基础上建立对数据进行合规利用的途径,当然其核心还是应落在建立相关操作规范和加强应用试点,并在技术层面建立数据转化的系统及平台,在宏观层面建立数据应用渠道的指导和监管。

共识 10:加强保护促进利用。加强人类遗传资源的管理是保障临床 NGS 数据安全及合规利用的基础,需为此建立数据合规转化的系统及平台,并加以规范和试点。使相关人群的重要且敏感的基因信息以及临床诊疗信息得以体系化管理和保护;与此同时,临床 NGS 数据有效且合规地利用对于科技突破、产业发展和临床服务具有战略价值。

总之,本共识认为,为促进 NGS 的发展和应用,在行业战略层面,应将实现创新、突破瓶颈以及争取领先作为目标,加强行业内部的协作,为建立规范标准达成共识,为促进临床应用做好基础建设,为数据开发利用铺路搭桥。在行业发展层面,为实现突破瓶颈,应总结行业内在创新路上的成功者、失败者和前行者的案例,这在当前的国际国内科技发展形势下尤为重要。创新是行业发展的根本,结合 2018 年《创新医疗器械特别审查程序》的精神,监管层面应给予政策倾斜,鼓励企业在专利申请、国内首创、国际先进和显著临床价值几方面实现弯道或换道超车,使 NGS 逐步实现常规化、商业化、进医保的可持续发展路径。

责任作者

康熙雄 中国生物医学工程学会医学检验工程分会

专家组成员

姓名 单位

柴映爽 上海阅尔基因技术有限公司

常津 天津大学

陈才夫 上海思路迪生物医学科技有限公司

邓玉林 北京理工大学

董文飞 中国科学院苏州生物医学工程技术研究所

杜仁寿 苏州贝康医疗股份有限公司
 方震 中国科学院电子学研究所
 盖伟 微岩医学科技(北京)有限公司
 高阳 北京航空航天大学杭州创新研究院
 顾卫红 中日友好医院
 郝向稳 北京基云惠康科技有限公司
 姜艳芳 吉林大学第一医院
 蒋兴宇 南方科技大学
 刘超 杭州杰毅生物技术有限公司
 刘清君 浙江大学
 刘志忠 中国康复研究中心
 鲁辛辛 首都医科大学附属北京同仁医院
 汪亮 基因慧
 王辉 北京大学人民医院
 王璠 杭州杰毅生物技术有限公司
 王屹 中国康复研究中心
 徐英春 北京协和医院
 张彦 广东省妇幼保健院医学遗传中心
 张国军 首都医科大学附属北京天坛医院
 赵建宏 河北医科大学第二医院
 郑光辉 首都医科大学附属北京天坛医院
 周钦 重庆医科大学检验医学院
 朱耀毅 中国医疗器械行业协会体外诊断分会

所有作者均声明不存在利益冲突。

参考文献

- [1] Bell CJ, Dinwiddie DL, Miller NA, et al. Carrier testing for severe childhood recessive diseases by next-generation sequencing [J]. *Science Translational Medicine*, 2011, 3(65):44-46.
- [2] Cottrell CE, Al-Kateb H, Bredemeyer AJ, et al. Validation of a Next-Generation Sequencing Assay for Clinical molecular oncology [J]. *The Journal of Molecular Diagnostics*, 2014, 16(1):89-105.
- [3] Lo YM, Corbetta N, Chamberlain PF, et al. Presence of fetal DNA in maternal plasma and serum [J]. *Lancet*, 1997, 350(9076):485-487.
- [4] Hicks JK, Howard R, Reisman P, et al. Integrating somatic and germline next-generation sequencing into routine clinical oncology practice [J]. *JCO Precis Oncol*, 2021, 20(5): 885-895.
- [5] Zhong Y, Xu F, Wu J, et al. Application of next generation sequencing in laboratory medicine [J]. *Annals of Laboratory Medicine*, 2021, 41(1):25-43.
- [6] GB/T 33681 高通量基因测序样本预处理方法[S]. 2017.
- [7] MacConaill LE, Van Hummelen P, Meyerson M, et al. Clinical implementation of comprehensive strategies to characterize cancer genomes: opportunities and challenges [J]. *Cancer Discovery*, 2011, 1(4):297-311.
- [8] 赵初娴, 王健民, 李军民, 等. 应用二代测序技术分析急性髓系白血病患者基因突变及其对预后的影响 [J]. *中华医学杂志*, 2019, 99(40): 3145-3151.
- [9] 黄荷凤, 乔杰, 刘嘉茵等. 胚胎植入前遗传学诊断/筛查技术专家共识 [J]. *中华医学遗传学杂志*, 2018, 35(2):151-155.
- [10] Wetterstrand KA. DNA Sequencing Costs: Data from the NHGRI Genome Sequencing Program [DB]. www.genome.gov/sequencingcostsdata, 2022-07-16/2022-12-22.
- [11] Jiang F, Ren J, Chen F, et al. Noninvasive Fetal Trisomy (NIFTY) test: an advanced noninvasive prenatal diagnosis methodology for fetal autosomal and sex chromosomal aneuploidies [J]. *BMC Med Genomics*, 2012, 5:57.
- [12] 中国临床肿瘤学会肿瘤标志物专家委员会. 中国肿瘤驱动基因分析联盟. 二代测序技术在肿瘤精准医学诊断中的应用专家共识 [J]. *中华医学杂志*, 2018, 98(26): 2057-2065.
- [13] Hampel H, Bennett RL, Buchanan A, et al. A practice guideline from the American College of Medical Genetics and Genomics and the National Society of Genetic Counselors; referral indications for cancer predisposition assessment [J]. *Genetics in Medicine*, 2015, 17(1):70-87.
- [14] 徐艳文, 黄国宁, 孙海翔, 等. 高通量基因测序植入前胚胎遗传学诊断和筛查技术规范(试行) [J]. *生殖医学杂志*, 2017, 26(5): 391-396.
- [15] 李进. 中国临床肿瘤学会(CSCO)乳腺癌诊疗指南 [M]. 北京:人民卫生出版社, 2019.
- [16] 张文宏, 艾静文, 曹清, 等. 中国宏基因组学第二代测序技术检测感染病原体的临床应用专家共识 [J]. *中华传染病杂志*, 2020, 9: 681-689.
- [17] 黄辉, 顾卫红, 黄尚志, 等. 临床基因检测报告规范与基因检测行业共识探讨 [J]. *中华医学遗传学杂志*, 2018, 35(1): 1-8.
- [18] 王剑, 顾卫红, 黄辉, 等. 遗传病二代测序临床检测全流程规范化共识探讨(1)——遗传检测前流程 [J]. *中华医学遗传学杂志*, 2020, 37(3): 334-338.
- [19] 黄尚志, 曾秀凤, 黄辉, 等. 遗传病二代测序临床检测全流程规范化共识探讨(2)——样品采集处理及检测 [J]. *中华医学遗传学杂志*, 2020, 37(3): 339-344.
- [20] 沈亦平, 黄颐, 汪亮等. 遗传病二代测序临床检测全流程规范化共识探讨(3)——数据分析流程 [J]. *中华医学遗传学杂志*, 2020, 37(3): 345-351.
- [21] 黄辉, 沈亦平, 顾卫红, 等. 遗传病二代测序临床检测全流程规范化共识探讨(4)——检测报告解读和遗传咨询 [J]. *中华医学遗传学杂志*, 2020, 37(3): 352-357.
- [22] 中国耳聋基因筛查与诊断临床多中心研究协作组, 全国防聋治聋技术指导组. 遗传性耳聋基因筛查规范 [J]. *中华医学杂志*, 2021, 101(2): 97-102.
- [23] Cheng DT, Mitchell TN, Zehir A, et al. Memorial sloan kettering-integrated mutation profiling of actionable cancer targets (MSK-IMPACT) [J]. *The Journal of Molecular Diagnostics*, 2015, 17(3):251-264.
- [24] 周建娅, 莫伟芳, 赵菁, 等. 非小细胞肺癌患者 EGFR 基因突

- 变的临床病理特征[J]. 中华医学杂志, 2014, 94(30): 2332-2336.
- [25] 张静静, 李蒙, 汪铮, 等. 与基因和家族遗传相关的间质性肺疾病[J]. 中华医学杂志, 2021, 101(27): 2175-2178.
- [26] 陶悦, 傅启华, 莫茜. 病原宏基因组测序在新型冠状病毒检测中的应用与挑战[J]. 中华检验医学杂志, 2020, 43(3): 217-220.
- [27] Petersen E, Koopmans M, Go U, et al. Comparing SARS-CoV-2 with SARS-CoV and influenza pandemics[J]. *Lancet Infect Dis*, 2020, 20(9): e238-e244.
- [28] Standl F, Jockel KH, Brune B, et al. Comparing SARS-CoV-2 with SARS-CoV and influenza pandemics[J]. *Lancet Infect Dis*, 2021, 21(4): e77.
- [29] 白莹, 李双, 宗亚楠, 等. 杜氏/贝氏肌营养不良症 433 个家系的基因突变分析[J]. 中华医学杂志, 2016, 96(16): 1261-1269.
- [30] 李艳春, 陈忠. 构建血液恶性肿瘤基因检测体系[J]. 中华医学杂志, 2019, 99(41): 3209-3215.
- [31] Garraway LA. Genomics-driven oncology: framework for an emerging paradigm[J]. *J Clin Oncol*, 2013, 31(15): 1806-1814.
- [32] Hess JF, Kohl TA, Kotrová M, et al. Library preparation for next generation sequencing: a review of automation strategies[J]. *Biotechnology Advances*, 2020, 41: 107537.
- [33] Lundin S, Stranneheim H, Pettersson E, et al. Increased throughput by parallelization of library preparation for massive sequencing[J]. *PLoS ONE*, 2010, 5(4): e10029.
- [34] Mardis E, McCombie W R. Automated library preparation for DNA sequencing[J]. *Cold Spring Harbor Protocols*, 2017, 2017(3): t94631.
- [35] Koboldt DC, Steinberg KM, Larson DE, et al. The next-generation sequencing revolution and its impact on genomics[J]. *Cell*, 2013, 155(1): 27-38.
- [36] Head SR, Komori HK, LaMere SA, et al. Library construction for next-generation sequencing: overviews and challenges[J]. *BioTechniques*, 2014, 56(2): 61-77.
- [37] 张瑞, 吴祁生, 李金明. 应重视血液肿瘤相关分子检测实验室人员队伍的建设[J]. 中华医学杂志, 2021, 101(13): 904-907.
- [38] Reid JG, Carroll A, Veeraraghavan N, et al. Launching genomics into the cloud: deployment of Mercury, a next generation sequence analysis pipeline[J]. *BMC Bioinformatics*, 2014, 15(1): 30.
- [39] 康倩, 金鹏, 杨浪, 等. 外周血游离 DNA 中 Septin9 基因甲基化在结直肠癌筛查中的意义[J]. 中华医学杂志, 2014, 94(48): 3839-3841.
- [40] 中华人民共和国人类遗传资源管理条例[EB/OL]. https://www.gov.cn/zhengce/content/2019-06/10/content_5398829.htm? t=1645782270297. 2016-06-10/2023-03-21.
- [41] 余晨, 中华人民共和国数据安全法[EB/OL]. <http://www.npc.gov.cn/npc/c30834/202106/7c9af12f51334a73b56d7938-f99a788a.shtml>, 2021-06-10/2022-12-22.
- [42] 王芳, 刘红星. 转录组测序促进血液肿瘤精准医疗和临床实践[J]. 中华医学杂志, 2021, 101(13): 899-903.