

ICS 11.100
CCS C 05

CITS

团 体 标 准

T/CITS 275—2025

临床下一代测序自动化与常规化技术要求

Technical requirements for automation and
routinization of clinical next-generation sequencing

2025-02-17 发布

2025-02-17 实施

中国检验检测学会 发布

目 次

前言	II
引言	III
1 范围	1
2 规范性引用文件	1
3 术语和定义	1
4 缩略语	2
5 总体要求	2
5.1 标准化流程	2
5.2 设备自动化	2
5.3 设备常规化	2
5.4 数据管理与分析	2
5.5 人员资质与培训	3
5.6 信息安全	3
6 技术要求	3
6.1 规范化采样	3
6.2 自动化核酸提取纯化和建库	3
6.3 基因测序系统	4
6.4 生物信息分析	4
6.5 质量控制	4
6.6 报告解读和遗传咨询	5
6.7 医疗信息化系统	5
6.8 培训教育	5
6.9 数据管理	6
参考文献	7

前 言

本文件按照 GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由吉林大学第一医院和国军标（北京）标准化技术研究院提出。

本文件由中国检验检测学会归口。

本文件起草单位：吉林大学第一医院、首都医科大学附属北京天坛医院、国家卫健委临床检验中心、南方医科大学南方医院、苏州吉因加生物医学工程有限公司、中国科学院长春应用化学研究所、天津医科大学肿瘤医院、复旦大学附属中山医院、中国食品药品鉴定研究院体外诊断试剂检定所、南京大学鼓楼医院、北京博奥医学检验所有限公司、北京青元开物技术有限公司、北京实安科技有限公司、北京医学检验学会、北京中检体外诊断工程技术研究中心、南京世和基因生物技术股份有限公司、深圳海普洛斯医疗系统科技有限公司、深圳华大智造科技股份有限公司、深圳市真迈生物科技有限公司、四川省医学科学院·四川省人民医院、国军标（北京）标准化技术研究院、通标伟业（北京）标准化技术研究院。

本文件主要起草人：姜艳芳、康熙雄、张瑞、郑磊、蔡贞、田超、王珺、杜衍、于津浦、纪元、黄杰、杨军、邓涛、朱修篁、王东、李娜、穆红、江雅、张晓妮、李景、颜钦、周玉、戴其全、杨桂花、樊素慧。

引 言

下一代测序（next-generation sequencing, NGS）技术在无创产前诊断、新生儿筛查、罕见病辅助诊断、感染病原体鉴定、肿瘤分子分型及靶向药物筛查等领域的发展尤为显著。自动化与常规化设备在 NGS 技术中的应用提高了检测水平，缩短了检测流程时间，为临床和患者提供了更准确、更快捷的服务。然而，在实际应用中，这些自动化设备由于缺乏统一的技术标准和操作规范，不同实验室和机构之间的测序结果可能存在差异，同时，设备自动化和 NGS 技术常规化的标准指导不足也增加了决策的复杂性和不确定性。

本文件从技术及应用角度提出了 NGS 自动化与常规化的要求，旨在推动 NGS 技术加速发展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。

临床下一代测序自动化与常规化技术要求

1 范围

本文件规定了临床下一代测序自动化与常规化的总体要求，以及规范化采样、自动化核酸提取纯化和建库、基因测序系统、生物信息分析、质量控制、报告解读和遗传咨询、医疗信息化系统、培训教育和数据管理方面的技术要求。

本文件适用于医院及第三方医疗机构实验室在肿瘤、遗传及病原微生物临床下一代测序工作。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

- GB/T 22239 信息安全技术 网络安全等级保护基本要求
- GB/T 27025 检测和校准实验室能力的通用要求
- GB/T 40458 用于病原微生物高通量检测的核酸提取技术规范
- GB/T 40974 核酸标本质量评价方法
- GB/T 42060 医学实验室 标本采集、运送、接收和处理的要求
- WS/T 661 静脉血液标本采集指南

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

下一代测序 next-generation sequencing; NGS
能够一次并行对大量核酸分子进行平行序列测定的技术。
[来源：GB/T 30989—2014，3.19，有修改]

3.2

自动化 automation
测序设备、系统或过程在没有人或较少人的直接参与下，按照预定的要求自动实现测序的过程。

3.3

常规化 routinization
将 NGS 技术应用于常规临床诊疗、健康管理等场景，实现技术的普及和标准化。

3.4

文库 library
通过生物来源、人工合成或克隆技术等所得的一个重建分子群，如基因组文库、互补 DNA 文库、噬菌体展示肽文库等。
[来源：GB/T 30989—2014，3.5]

3.5

生物信息学 bioinformatic analysis

应用信息科学及相关学科的方法和技术,研究和分析生物体系和生物过程中信息存储、处理和传递的一门交叉学科。

[来源: GB/T 29859-2013, 2.1.1]

4 缩略语

下列缩略语适用于本文件。

DNA: 脱氧核糖核酸 (deoxyribonucleic acid)

RNA: 核糖核酸 (ribonucleic acid)

5 总体要求

5.1 标准化流程

5.1.1 实验室应建立临床检测的 NGS 标准化流程 (以下简称临床 NGS), 包括样本采集及运输、样本前处理、核酸提取纯化、文库制备、测序、数据分析和结果解读等环节。

5.1.2 临床 NGS 应明确各环节的具体流程、操作规范和质量标准, 并定期评估更新, 以适应技术发展和临床需求的变化。

5.2 设备自动化

5.2.1 实验室宜配备符合临床 NGS 要求的自动化测序所需的仪器设备, 性能指标应达到说明书规定, 并满足检测预期用途, 自动化设备至少包括自动化建库系统和测序平台。宜尽量包括自动化核酸提取、纯化仪、自动化样本前处理工作站等设备、数据分析服务器或其他具备自动化和常规化的能力的设备。

5.2.2 自动化建库设备可为移液法或样本封闭自动化为基础构建的自动化建库设备, 可不设定固定场景或环节, 宜尽量扩展至全流程, 满足临床 NGS 检测技术需求。

5.2.3 基因测序平台选择应综合考虑可操作性、测序读长和通量、测序准确率、运行时间和测序成本等。

5.2.4 应根据实验室需求和临床 NGS 的特点, 设计合理的自动化操作流程, 实现样本处理、测序、数据分析等环节的自动化。

5.2.5 应配备相应的自动化软件, 实现自动化的样本处理、文库构建、定量及测序, 及测序数据的自动处理、分析和报告生成。建立自动化设备性能验证体系, 确认自动化设备能够满足临床需求。

5.2.6 应按照 GB/T 27025 的规定, 定期对自动化设备进行维护和校准。

5.3 设备常规化

5.3.1 设备宜与诊疗环境相匹配, 且这些载体应具备信息处理和临床应用的功能。

5.3.2 基因测序系统宜具有足够的灵活性, 适应不同通量的试剂需求, 应提供较短的检测周期, 能够兼容多种工作流程模块。

5.3.3 基因测序仪与自动化核酸提取、纯化以及文库构建设备宜具有可整合的性能。临床 NGS 平台宜实现试剂和耗材的模块化设计, 生物信息学分析的自动化处理, 以及软硬件的高度集成, 建立湿实验 (实验室物理操作) 与干实验 (数据分析和计算模拟) 全自动化的临床 NGS 平台。

5.4 数据管理与分析

5.4.1 应建立完善的数据管理系统, 包括数据备份、数据访问权限控制、数据安全保护等, 符合 GB/T 22239 的规定。

5.4.2 实验室应建立数据质量控制标准, 对原始数据进行质量评估。对于低质量数据, 应建立数据补测或重测机制, 并定期进行数据质量控制评估, 不断优化数据处理流程。

5.4.3 实验室应建立标准化的数据分析流程和方法, 包括读长筛选、序列比对、变异检测等。数据分析过程中应使用经过验证的算法和软件, 定期进行数据分析方法更新和优化

5.5 人员资质与培训

5.5.1 实验室人员应符合 GB/T 27025 的要求。从业人员应具有生物学、医学、遗传学等相关专业学习经历，持有相关的职业资格证书，如临床基因扩增上岗证等。

5.5.2 实验室应建立人员培训与资质认证体系（包括管理体系和技术体系认证），定期组织内部或外部的专业培训并考核，确认其具备相应的专业知识和技能。

5.5.3 从事临床遗传咨询的人员应具备相关的医学、遗传学知识和专业技能，经过专业培训并获得相应资质。

5.5.4 临床遗传咨询团队专家主要包括：

- a) 临床类的临床遗传医师（具有处方权）；
- b) 有遗传学背景的临床实验室医师（具有签发临床遗传检测报告权）；
- c) 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）。

5.5.5 应健全遗传咨询师（参与检测前和检测后的遗传咨询及遗传检测报告的解读）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。

5.6 信息安全

5.6.1 实验室应建立信息安全管理体系，包括数据保密、访问控制、网络安全等方面，对访问临床 NGS 数据的用户进行严格的身份认证和权限管理。

5.6.2 建立数据备份和恢复机制，对数据的修改、删除等操作应有明确的记录，并定期维护检查存储设备。

5.6.3 应定期对网络安全进行评估和测试，及时发现并解决潜在的安全风险。

6 技术要求

6.1 规范化采样

6.1.1 应按照 WS/T 661 的要求采集静脉血液标本。

6.1.2 应按照 GB/T 42060 的要求采集、运送、接收和处理样本。

6.2 自动化核酸提取纯化和建库

6.2.1 自动化设备与材料

6.2.1.1 自动化核酸提纯设备应能够实现对不同类型样本的核酸高效提取和纯化。建库系统能支持多种不同类型文库的制备和测序平台，并具备友好的用户界面和简便的操作流程。

6.2.1.2 设备使用的试剂盒和耗材应经过验证，并与测序技术兼容，满足后续建库和测序的要求。

6.2.2 核酸提取纯化

6.2.2.1 应根据不同样本类型选择合适的核酸提取方法和试剂，制定相应的核酸提取方法和质量评价的标准操作程序（standard operation procedure, SOP）文件，应符合 GB/T 40458 的要求。

6.2.2.2 通过设立质量控制指标，如纯度、浓度、完整性等，对提取纯化的核酸进行定性和定量分析。核酸样本质量评价应符合 GB/T 40974 的要求。

6.2.2.3 病原核酸提取过程中可引入经验证的降低人源核酸处理方法。核酸提取达不到最低标准的要求时，应重新提取核酸或采集样本。

6.2.3 文库构建

6.2.3.1 自动化建库系统应具备高度的自动化程度、稳定的操作性能及良好的兼容性，能支持多种不同类型文库的制备和测序平台。

6.2.3.2 采用不同建库试剂盒制备文库的流程略有不同，制备好的文库应进行浓度测定和/或使用生物分析仪和/或定量 PCR 等方法进行质量评价，并设定明确的质量标准。

6.2.3.3 自动化建库系统的设计应与相应的检测项目技术路线相契合，综合考虑性能指标、质量控制、污染防控等因素。

6.2.3.4 文库构建的要求包括但不限于：

- a) 应选用操作简单、步骤较少的建库方法；
- b) 文库构建过程中，应设立明确的水库合格标准（文库浓度、片段大小等），满足各测序平台的实验要求；
- c) 文库构建方法可用已知样本、模拟样本或质控品进行验证或开展实验室间比对。

注：目前常用的文库构建方法有超声打断法和转座酶法。

6.2.3.5 NGS 自动化建库由多步过程构成，主要步骤包括：

- a) 文库打断及片段大小筛选：
确认建库过程中涉及的片段纯化和片段筛选实验条件的稳定性和一致性。
- b) 杂交捕获：
 - 1) 自动化杂交捕获实验应控制准确的杂交条件、洗涤液温度及磁珠洗涤移液条件；
 - 2) 具备准确的温度控制模块及充分、精细的热洗移液条件；涉及混库的浓缩，自动化系统应集成具备浓缩功能的模块或设备。
- c) 文库均一化和混库自动化：
 - 1) 由自动化设备读取表单中各待加样本和稀释液的体积信息，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；
 - 2) 对于自动化集成程度高且数据处理能力强的系统，可集成核酸定量分析设备。
- d) 建库全自动一体机：
 - 1) 全自动建库系统内置的自动化单元应适配主流的水库试剂盒，可兼容手工使用的商品化建库试剂盒；
 - 2) 自动化平台不应局限于部分场景或特定几个环节，应进一步拓展至全流程，扩大适配范围；
 - 3) 根据自动化平台覆盖的实验环节，应综合考虑优化实验室物理空间的布局，能够实现流向管理等；
 - 4) 全流程自动化平台应考虑硬件控制平台、实验室 LIS 系统（laboratory information system, LIS）、生物信息控制平台、报告解读平台等系统、高效、安全的通讯连接。

6.3 基因测序系统

NGS 测序平台应实现自动化和常规化操作。

6.4 生物信息分析

6.4.1 NGS 基因数据的生物信息分析可分为以下三级：

- a) 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，产生读长输出 FASTQ（存储了生物序列以及相应的质量评价的文本格式）等相关结果文件；
- b) 二级分析（初级分析）：基因序列比对等初级处理，包括与参考基因组数据进行比对、序列标重/去重、变异检测和对基因/位点进行初步的功能注释等；
- c) 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。

6.4.2 生物学信息分析应考虑预期用途、软硬件功能、数据存储位置、版本号及信息备份等，并设置读取规则、人员权限和数据异常警报等。

6.4.3 应加速构建集成文库及测序和数据分析一体化的 NGS 系统，最大程度缩短检测周期，为临床患者及时提供基因检测报告。

6.4.4 应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，有条件时可形成既可独立分析的管道，又可组装至自动化系统的分析流程。

6.4.5 应建立普遍适用及可定期更新的参考数据库，并建立版本控制。对大规模数据分析时，应配备对应的网络传输工具及数据管理架构，形成有效的协作空间。

6.4.6 实验室应建立生物信息学程序的书面质量管理计划文件，内容包含监测和评估运行性能的指标和质控参数，以及定期监测的指标和质控参数。

6.5 质量控制

6.5.1 样本采集、核酸提取、文库构建，生物信息学分析环节均应设置相应的质量控制及具体的质量

控制阈值。

6.5.2 质量控制指标根据不同的样本类型及检测流程包括但不限于样本状态、保存及运输条件、核酸提取浓度、文库浓度、测序数据量、测序碱基质量、测序深度、覆盖度、宿主比率等。

6.5.3 DNA 样本或 RNA 反转录后 DNA 样本应满足文库构建要求。

6.5.4 NGS 实验应明确室内质量控制的在控和失控标准，包括阳性质控品、阴性质控品。若无适用于 NGS 的商业化质控品，实验室宜通过以下途径获得：

- a) 使用试剂盒自带的阴性质控品、阳性质控品；
- b) 使用已知变异的患者组织作为阳性质控品或正常体细胞 DNA 作为阴性质控品；
- c) 病原样本阴性质控不宜用纯水或磷酸盐缓冲液等不含人源细胞/核酸的样本，可以根据待测样本类型的人源细胞/核酸浓度的分布和中位数设置阴性对照样本的人源含量；阳性质控品可以根据分析性能确认的数据，在人源细胞基质（可与阴性对照样本浓度保持一致）中投入 3 倍～5 倍检出限的不同类型的灭活微生物制备，不宜使用质粒作为阳性质控品。

6.5.5 实验室应有周期性的留样复测、同一样本人员比对、不同方法同一样本比对、设备期间核查等方式，定期对检测系统的稳定性、仪器设备、新进人员等环节进行内部质控。

6.6 报告解读和遗传咨询

6.6.1 报告解读

6.6.1.1 应对原始数据进行严格的质量控制，包括测序深度、覆盖度、碱基质量等方面的评估。应去除低质量数据和异常数据，确认用于解读的数据具有代表性和稳定性。

6.6.1.2 数据解读过程中应对测序数据进行变异或病原检测，并进行变异或病原注释和分类，结合已知的数据库和文献信息，评估变异或病原的致病性和临床意义。

6.6.1.3 数据解读时应考虑个体差异和遗传背景，将结果以清晰、易懂的方式呈现，包括变异的详细信息、可能的临床意义、对疾病的预测等。

6.6.1.4 结果应以清晰、准确的格式进行报告。结果报告应包括变异位点或病原种类注释和分类的详细信息、变异或病原种类的功能影响、临床意义的解释等内容，并对数据的可信度进行评估，提供相应的支持材料（样本质控信息）。

6.6.1.5 检测报告内容主要包括：

- a) 患者姓名、年龄、住院号、病区床号、送检单位及送检日期、临床诊断等基本信息；
- b) 样本编号、样本种类、采样日期和接收日期、样本处理过程；
- c) 检测项目、检测方法、与局限性说明、检测设备、检测结果与临床建议及报告版本号；
- d) 检测者、审核者及检测时间。

6.6.2 遗传咨询

6.6.2.1 遗传咨询应涵盖患者的遗传病风险、遗传特征、疾病预防等方面，咨询过程中应采用通俗易懂的语言，解释遗传病的发生机制、遗传方式、临床表现等。

6.6.2.2 应建立遗传咨询远程多学科诊疗（multidisciplinary care, MDT）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。

6.7 医疗信息化系统

6.7.1 应将临床诊疗数据、病理数据、检验数据、分子检测数据、表型数据和随访数据与医院信息系统（hospital information systems, HIS）、电子健康记录（electronic health records, EHR）有机融合，支持多平台、多终端的接入，实现数据的实时传输和共享，并能自动传输，形成常规化操作。

6.7.2 系统应能够根据患者的临床信息和测序数据，结合患者的家族史、病史等信息，评估患者罹患特定疾病的风险，并提供准确的变异解读、病原种类和遗传咨询。

6.7.3 应充分保护信息安全和患者隐私，采用加密技术、访问控制等手段，防止数据泄露和非法访问。

6.7.4 应将临床 NGS 报告通过数字化平台分发，宜辅以数据可视化及数据管理等功能。数字化的结果报告中主次分明，结果说明简洁明了。

6.8 培训教育

- 6.8.1 应选择具备相应资质和条件的培训机构或具有丰富 NGS 技术经验和教学经验的专家，对临床医生和医生助理进行系列性培训。
- 6.8.2 应基于信息化平台，加强临床推广表型术语的规范使用，及医生助理和遗传咨询的人员培训。
- 6.8.3 宜建立培训效果评估机制，通过学员反馈、实践操作考核等方式，对培训效果进行定期评估。
- 6.8.4 宜建立支持体系，对相关人群及特定患者进行科普教育。

6.9 数据管理

- 6.9.1 应采用强加密算法，加强 NGS 数据的安全管理，对测序数据进行加密处理。实施严格的权限管理制度，对不同级别的用户设定相应的数据访问权限，应符合 GB/T 22239 的规定。
- 6.9.2 应建立数据备份机制，能实现对数据的存储、查询、备份和恢复等操作，并定期进行数据备份。制定详细的数据恢复计划，记录数据的访问、修改和删除等操作。
注：测序数据及患者相关资料数据均备份 2 份，至少保存 3 年以上。
- 6.9.3 在数据安全和隐私保护的基础上，应建立数据合规转化的系统及平台，加以规范和试点。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。
- 6.9.4 数据利用过程中应严格遵守隐私保护原则，患者个人信息不应被泄露或滥用，使用脱敏技术处理敏感数据，降低数据泄露的风险。
- 6.9.5 应注重数据质量和准确性的控制，定期对数据进行质量评估和校准，及时发现并纠正数据中的错误和偏差。

参 考 文 献

- [1] GB/T 29859 生物信息学术语
- [2] GB/T 30989 高通量基因测序技术规程
- [3] 中国生物医学工程学会医学检验工程分会. 临床下一代测序的自动化与常规化专家共识[J]. 中国生物医学工程学报, 2023, 42 (6): 641-650. DOI: 10.3969/j.issn.0258-8021.2023.06.001
- [4] 中国药师协会, 中华医学会细菌感染与耐药防治分会, 国家卫生健康委临床抗微生物药物敏感性折点研究和标准制定专家委员会. 病原宏基因组高通量测序临床本地化检测规范专家共识[J]. 中华预防医学杂志, 2024, 58 (04): 454-465. DOI: 10.3760/cma.j.cn112150-20230720-00019
- [5] 中华检验医学杂志, 中华医学会检验医学分会, 宏基因组测序病原微生物检测生物信息学分析规范化管理专家共识[J]. 中华检验医学杂志, 2021, 44 (9): 799-807