



## 许燕彬

厦门艾德生物医药科技股份有限公司

技术服务部

总监

产品注册部

总监



# NSCLC血液检测方法选择及实验质量控制

4000-650-680  
[www.amoydx.com](http://www.amoydx.com)

# 目录

1  
临床应用

2  
技术选择

3  
规范流程

# 组织靶基因检测是目前的首选 但亦存在一定局限！

## 临床需求

初治患者：靶向治疗目标人群都需要分子检测结果

复治患者：  
动态监测驱动基因状态成为及时调整治疗方案的关键

快速获取分子检测结果是患者与临床医生的共同期待

分子检测需希望能代表患者体内肿瘤全貌

## 组织检测局限

部分患者因各种原因无法提供可检测的肿瘤组织

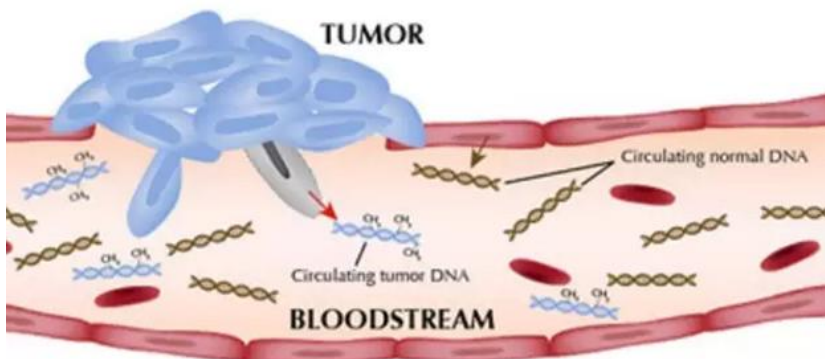
肿瘤灶再活检及反复活检临床挑战大，难以普及

目前组织检测流程普遍较长

肿瘤异质性使得活检组织的代表性有局限

## 样本（外周血）特点：

- 无创性
- 实时性
- 多次检测，采集量大
- 提供原发癌和转移灶的基因突变信息（均质）



**通过血液样本进行肿瘤分子分型，为更精准快速的治疗策略提供了很好的基础与可能性！**

**组织检测+血液检测~可惠及每一位患者！**

# EGFR突变组织检测目前存在的问题

## 1. 临床上约至少10-15%的患者无法获得组织标本

that *EGFR* mutation status can be accurately assessed using cfDNA and can be considered appropriate when tumour tissue is unavailable or the sample is exhausted. From the authors' clinical experience, ~ 10–15% of patients with advanced NSCLC attending clinic do not have tumour tissue samples available, thus making molecular-based treatment decisions difficult. Although this result

## 2. 临床上约30%的患者组织标本存在异质性，导致检测结果可能不准确

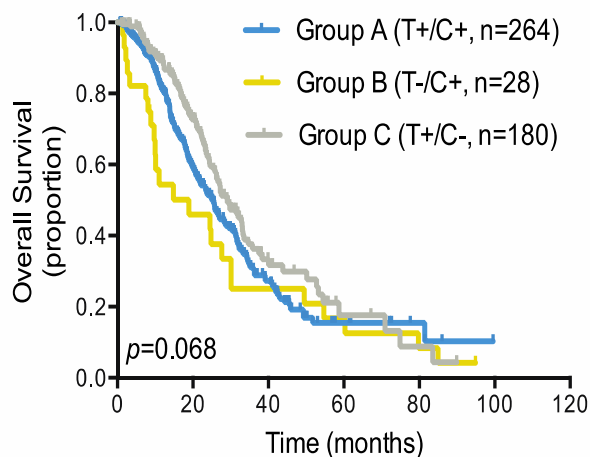
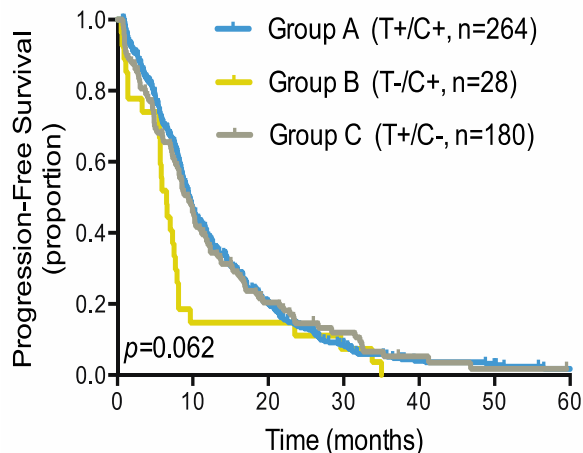
**Conclusion:** Approximately 30% of patients presented intratumoral *EGFR* mutational heterogeneity, accompanying with relatively low *EGFR* copy number. *EGFR* mutant content was correlated with the response and prognosis of *EGFR*-TKIs.

**Citation:** Bai H, Wang Z, Wang Y, Zhuo M, Zhou Q, et al. (2013) Detection and Clinical Significance of Intratumoral *EGFR* Mutational Heterogeneity in Chinese Patients with Advanced Non-Small Cell Lung Cancer. PLoS ONE 8(2): e54170. doi:10.1371/journal.pone.0054170

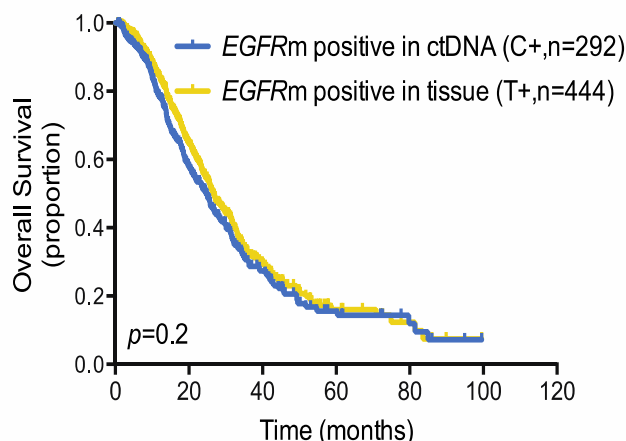
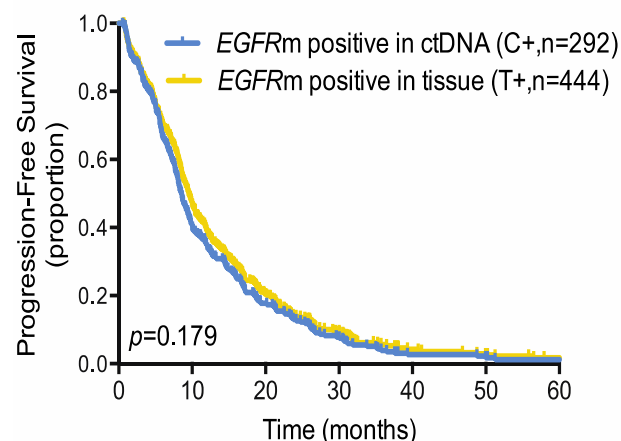
**Editor:** William C.S. Cho, Queen Elizabeth Hospital, Hong Kong

**Received** August 21, 2012; **Accepted** December 7, 2012; **Published** February 13, 2013

# 组织异质性是导致血液ctDNA检测阳性， 但组织检测阴性的主要原因



A组:组织和血液检测均为阳性(264例)  
B组:组织检测阴性, 血液检测阳性(28例)  
C组:组织检测阳性, 血液检测阴性(180例)



PFS和OS:B组略低于A组和C组  
但不存在统计学差异

PFS和OS:组织阳性和血液阳性  
患者一致

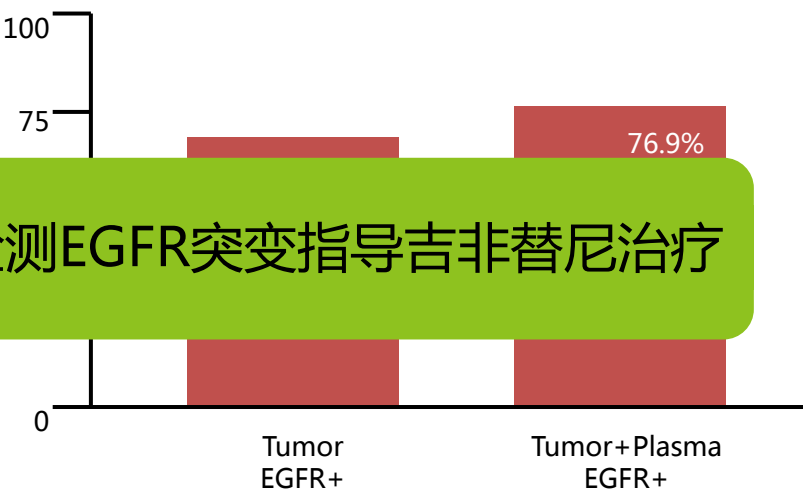
**组织检测和血液检测各自不能筛选出所有的EGFR突变阳性患者，  
但两者筛选出的阳性患者接受EGFR-TKI获益相近**

# 临床研究证实血液检测指导靶向用药可行性



## IFUM研究

	N	Rate(%)	95%CI
Concordance	652	94.3	92.3-96.0
PPV	70	98.6	92.3-100
NPV	582	93.8	91.5-95.6



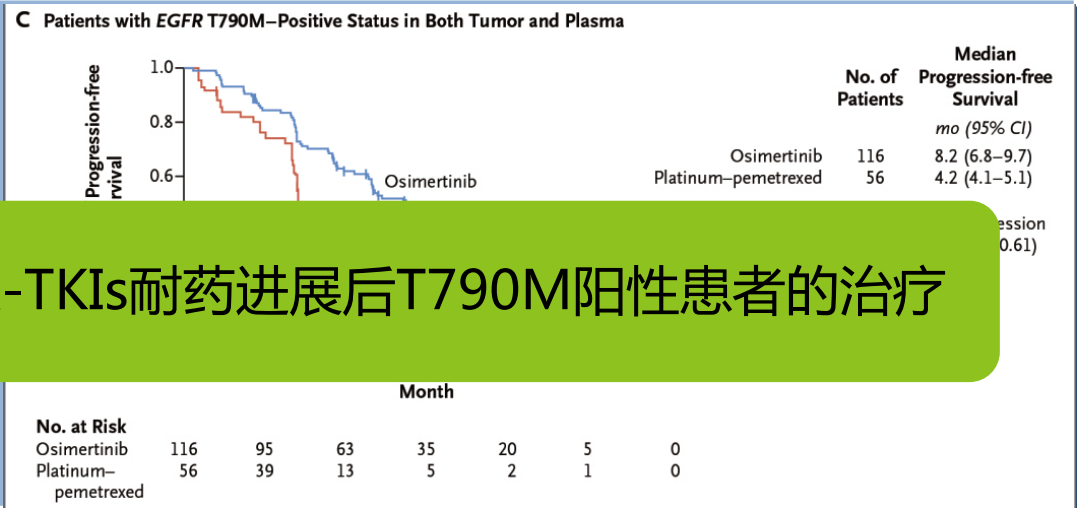
2014年9月 EUEMA批准  
2015年2月 CFDA批准  
可通过血液ctDNA检测EGFR突变指导吉非替尼治疗

## AURA3研究

经ctDNA检测T790M+患者  
奥西替尼治疗优于化疗

2015年11月 FDA批准  
2017年3月 CFDA批准  
用于EGFR-TKIs耐药进展后T790M阳性患者的治疗

ORR	71%	31%
DoR	8.5m	4.2m



# 血液与组织EGFR检测一致率约70-85%

## 血检阴性样本需经组织检测进一步验证

研究	例数	样本类型	方法	血液突变率	组织突变率	一致性	与预后的关联
Bai et al 2009 JCO	230例	血浆	DHPLC	34.3% (79/230)	33.5% (77/230)	<b>79.7% (63/79)</b>	预测EGFR TKI治疗的有效 ORR和PFS延长
Rosell SLCG研究 2009 NEJM	164例	血清	PCR	59.1% (97/164)	100%	<b>59.1% (97/164)</b>	EGFR突变与预后不良相关
IPASS, 2012 JTO	194例 ( 91例提 供组织样本 )	血清	DxS EGFR 试剂盒	23.7%	61.5%	<b>假阳性率0% 假阴性率56.9%</b>	EGFR突变与ORR/PFS 显著相关
FASTACT-2 2013 WCLC	224例 提供配对组 织样本	血浆	Cobas	33.0%	40.2%	<b>88%</b>	血浆EGFR突变是生存期强 有力的预测因素

**灵敏度：60%-85%；特异度：92%-100%；一致性：70%-85%**



# EGFR突变血液检测或可改变 晚期NSCLC精准治疗临床路径

AmoyDx  
艾德生物

## 现行方案



确诊NSCLC后进行组织检测，当无法获得足够的组织样本时采用血液检测

## 未来方案



疑似NSCLC患者同步进行病理确诊和血液初筛，确诊血检阳性NSCLC患者直接用药，血检阴性患者再组织检测筛查。

60-80% EGFR阳性  
患者可在1-2天内快  
速确诊，快速治疗

# 二次活检率低是EGFR-TKI治疗进展后 EGFR T790M突变检测的瓶颈

## □ ORIGINAL ARTICLE □

### Feasibility of Rebiopsy in Non-Small Cell Lung Cancer Treated with Epidermal Growth Factor Receptor-Tyrosine Kinase Inhibitors

EGFR-TKI治疗进展病人 数	40
适合二次活检获取 组织病人数	20
实际二次活检病人数	5
实际二次活检比例	<b>12.5%</b>

## Cancer Science

### Rebiopsy for patients with non-small-cell lung cancer after epidermal growth factor receptor-tyrosine kinase inhibitor failure

139例EGFR TKI 治疗进展NSCLC

120例符合3代EGFR-TKI入组

75例二次活检

71例可用于病理分析

61例可用EGFR T790M突变分析

EGFR-TKI治疗后进展的NSCLC患者可进行组织再次活检的比例**不足50%**

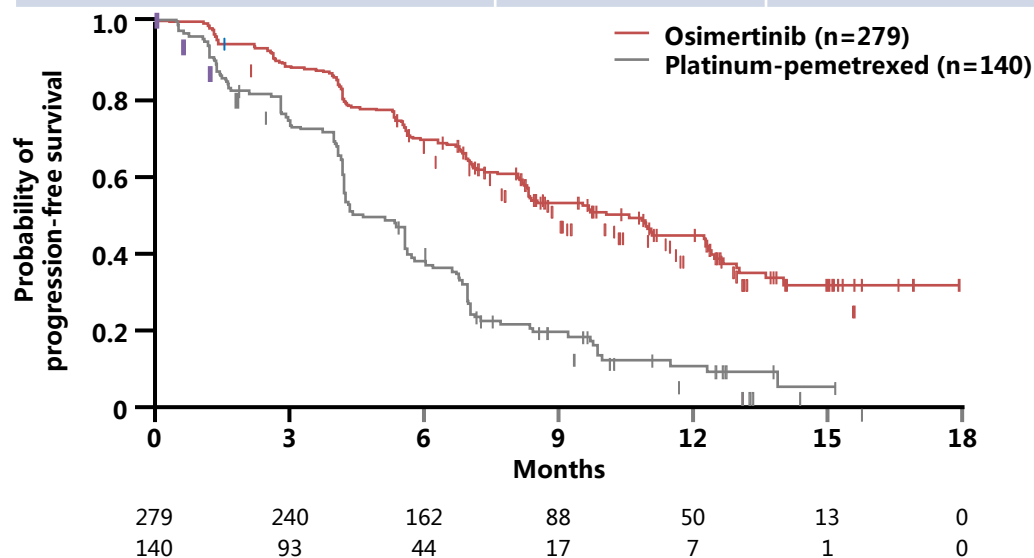
# 临床研究证实血检T790M阳性和组织T790M阳性患者奥希替尼治疗PFS相似

AmoyDx  
艾德生物

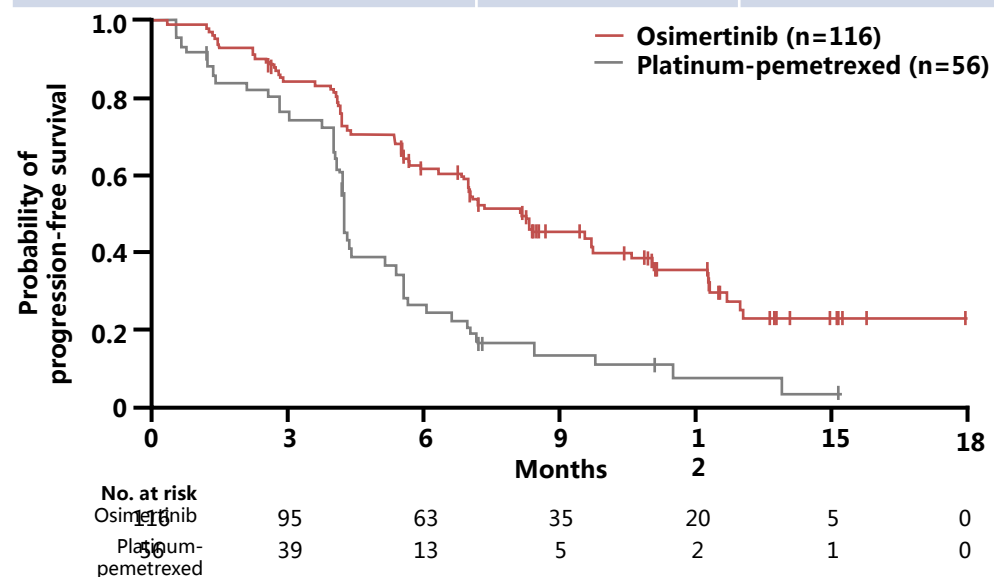
组织 T790M-阳性 (ITT)\*

血检T790M阳性

	Osimertinib	Platinum-pemetrexed
PFS HR (95% CI)	0.30 (0.23, 0.41)*, p<0.001	
Median PFS, months (95% CI)	10.1 (8.3, 12.3)	4.4 (4.2, 5.6)
ORR†, % (95% CI)	71 (65, 76)	31 (24, 40)



	Osimertinib	Platinum-pemetrexed
PFS HR (95% CI)	0.42 (0.29, 0.61)	
Median PFS, months (95% CI)	8.2 (6.8, 9.7)	4.2 (4.1, 5.1)
ORR†, % (95% CI)	77 (68, 84)	39 (27, 53)



Tick marks indicate censored data. PFS is defined as time from randomisation until date of objective disease progression or death. Progression included deaths in the absence of RECIST progression. Osimertinib administered 80 mg orally once daily. Platinum-pemetrexed group treatment consisted of: pemetrexed 500 mg/m<sup>2</sup> + carboplatin AUC5 or cisplatin 75 mg/m<sup>2</sup> Q3W for up to 6 cycles + optional maintenance pemetrexed for patients whose disease had not progressed after 4 cycles of platinum-pemetrexed. RECIST v1.1 assessments performed every 6 weeks until objective disease progression.

\*PFS adjusted for ethnicity. All patients were selected using a tumour tissue test for *EGFR* T790M (by **cobas**® EGFR Mutation Test) from a biopsy after disease progression prior to study entry;

†Response did not require confirmation per RECIST v1.1.

# 第三代EGFR-TKI获CFDA批准： 可通过ctDNA进行评估指导用药



2017年3月，CFDA批准了三代EGFR-TKI奥希替尼用于既往经EGFR-TKIs治疗时或治疗后出现疾病进展，并且经充分验证的检测方法对采自组织样本的肿瘤DNA或**血浆样本中获取的ctDNA**明确EGFR T790M突变阳性的局部晚期或转移性NSCLC患者的治疗



证实血液EGFR检测阳性可作为**三代EGFR-TKI用药的确认性结果**

# T790M耐药突变检测血液与组织配对研究： 血检阴性结果还需组织检测进一步验证



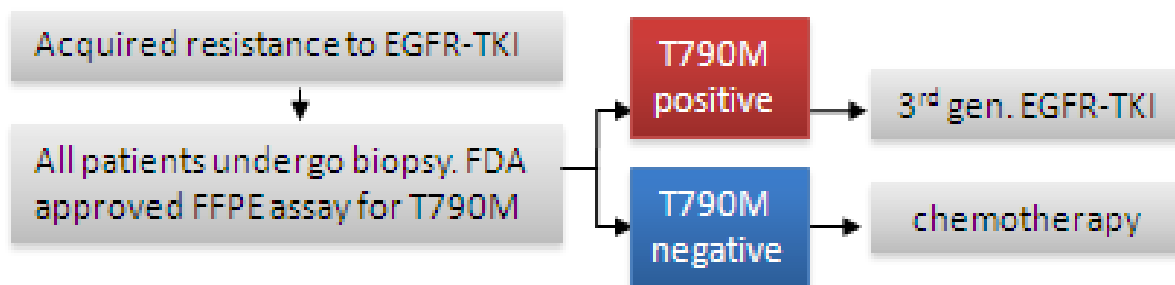
研究	检测方法	配对的组织和 血浆样本 (n)	符合率 % (n/总数)	灵敏度 % (n/总数)	特异度 % (n/总数)
Yoshitaka et al., 2016	picoliter-ddPCR (RainDance)	10	80% (8/10)	71%	
Zheng et al., 2016	ddPCR(Bio-Rad)	25	88.00% (22/25)	81.25% (13/16)	100.00% (9/9)
Ishii H et al., 2015	ddPCR(Bio-Rad)	18	83.3% (15/18)	81.8% (9/11)	85.7%
Thress et al., 2015	Cobas (Roche)	38	57%	41% (7/17)	100%(6/6)
	ddPCR(Bio-Rad)		74%	71% (12/17)	83%(5/6)
	ARMS (Qiagen)		48%	29% (5/17)	100% (6/6)
	BEAMing PCR (sysmex)		70%	71%(12/17)	67%(4/6)
Sequist et al., 2015	BEAMing PCR (sysmex)	227	73.6 % (167/227)	80.7% (155/192)	34.3% (12/35)

**灵敏度：29%-82%；特异度：34%-100%；一致性：48%-88%**

# NSCLC一代/二代TKI耐药后 血液检测的临床实践应用

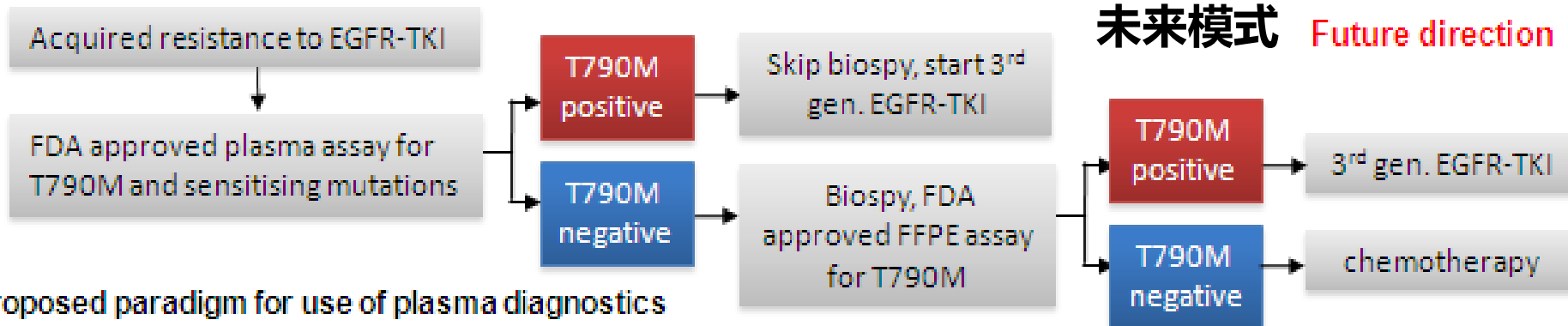
**在做T790M耐药活检之前，先用血浆检测进行T790M筛查**

## A. Conventional paradigm



**目前模式** Current status

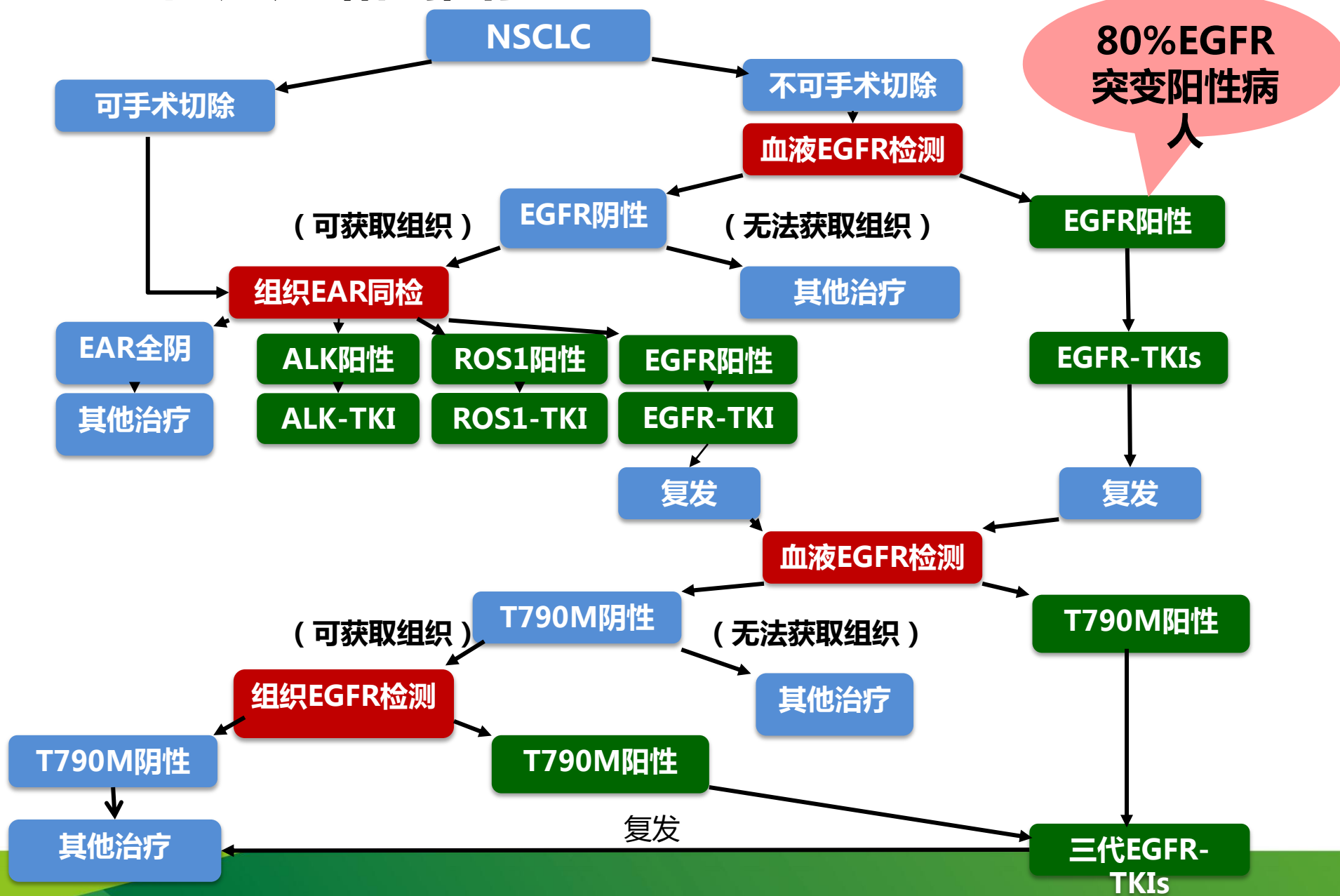
## B. Proposed paradigm for use of plasma diagnostics



**未来模式** Future direction

# 血液EGFR检测在NSCLC精准诊疗中的应用路径推荐

AmoyDx  
艾德生物



# 目录

1  
临床应用

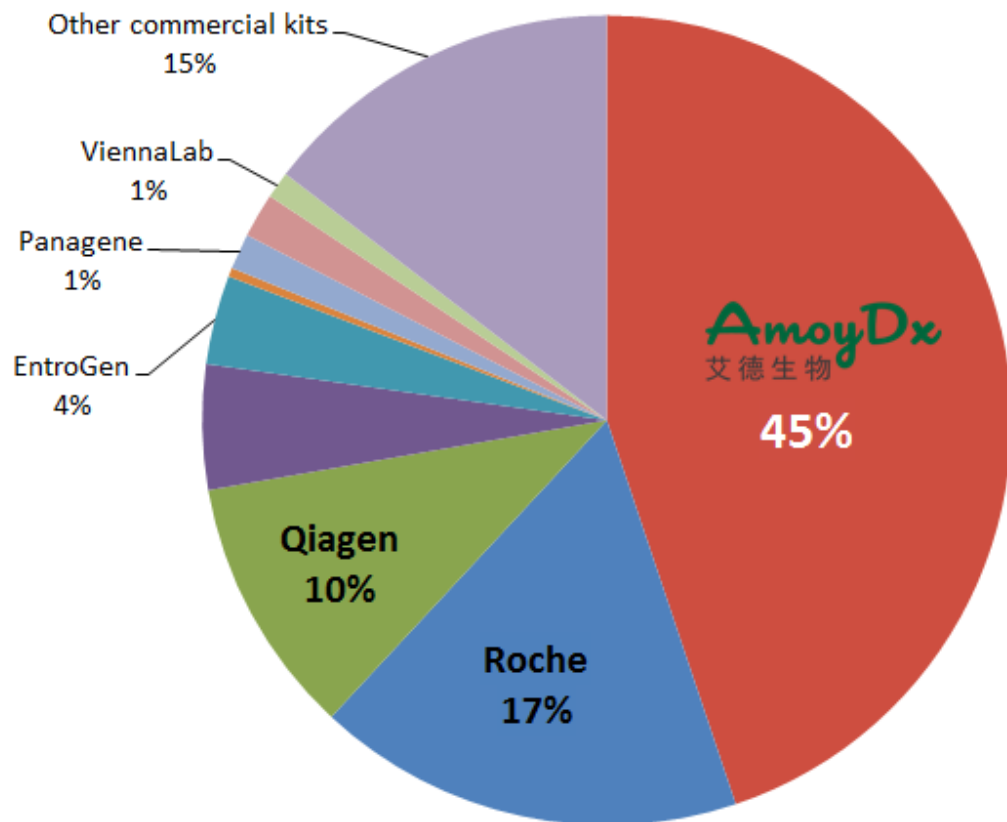
2  
技术选择

3  
规范流程

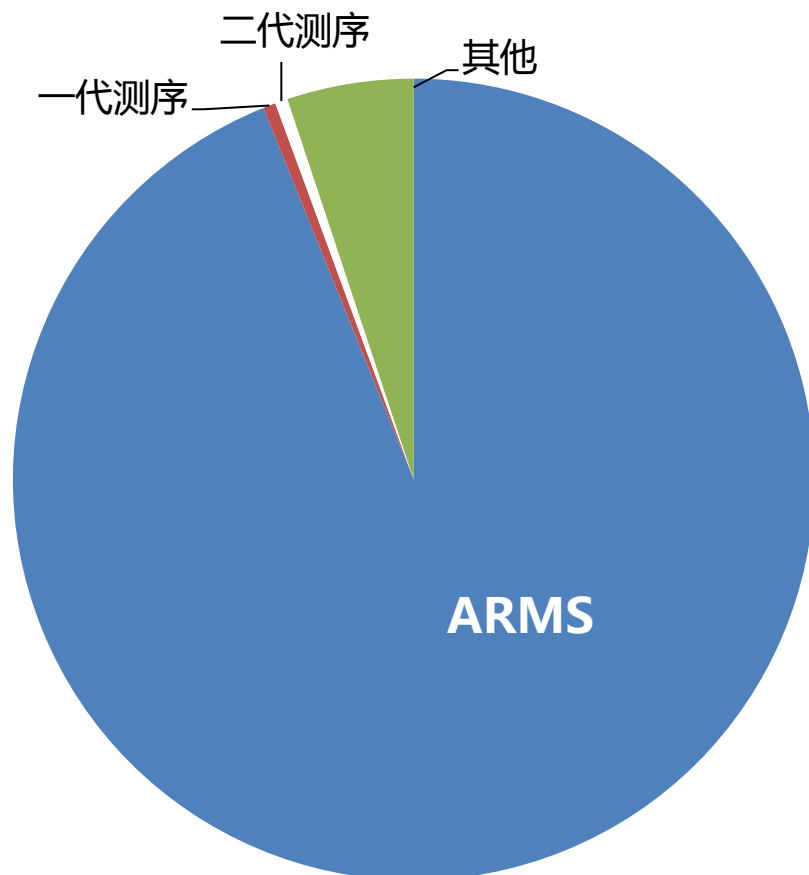


# 临床EGFR突变检测方法以ARMS法为主

EMQN 2016



PQCC 2016



连续数年，在EMQN及PQCC的EGFR室间质评中ARMS法使用率均居第一

# 指南共识推荐血液EGFR检测首选ARMS法

NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology (NCCN Guidelines®)

## Non-Small Cell Lung Cancer

Version 4.2017 — January 18, 2017

中华病理学杂志 2016 年 4 月第 45 卷第 4 期 Chin J Pathol, April 2016, Vol. 45, No. 4

· 217 ·

· 标准与规范 ·

中国非小细胞肺癌患者表皮生长因子受体  
基因突变检测专家共识 (2016 版)

中华医学杂志 2015 年 12 月 8 日第 95 卷第 46 期 Natl Med J China, December 8, 2015, Vol. 95, No. 46

· 3721 ·

· 标准与规范 ·

非小细胞肺癌血液 EGFR 基因突变  
检测中国专家共识

中国临床肿瘤学会(CSCO)原发性肺癌诊疗指南 2016.V1

中国临床肿瘤学会指南工作委员会

执笔: 吴一龙 程颖 周清 林冬梅 王洁 王长利 王绿化

卢铀 陆舜 周彩存 黄诚 宋启斌 钟文昭

2016 年 8 月  
第 16 卷第 4 期

循证医学  
The Journal of Evidence-Based Medicine

Aug. 2016  
Vol.16 No.4

· 临床指引与共识 ·

液体活检: 规范与精准同行

中国临床肿瘤学会、中国抗癌协会肺癌专业委员会

## 指南共识要点：

- 血液检测是有价值的补充，特别是动态监测
- 血液检测中的三个环节同等重要，均须规范
  - ✓ 样本采集方法
  - ✓ cfDNA提取方法
  - ✓ **突变检测方法首选ARMS**
- 血液检测方法敏感度需继续提高



目前成熟且最常用的检测血液EGFR基因突变的方法是**ARMS法**



肿瘤组织难以获取时，可利用血浆游离DNA**ARMS法**检测EGFR突变



检测已知的、单个临床可药物抑制的靶点，液体活检技术推荐**ARMS方法**

# ARMS用于组织和血液EGFR检测的主要技术数据

AmoyDx  
艾德生物

## 主要优点:

- 1, 简便快捷, 特异性好
- 2, 技术普及度高
- 3, 美中不足: 敏感度需提高

## 血液和组织比较 欧盟

Plasma	Tumor tissue		Total
	+	-	
+	69	1	70
-	36	546	582
Total	105	547	652

Qiagen ARMS 敏感性65.7% , 99%

## 血液和组织比较 中国

Plasma	Plasma	Tumour tissue		Total
		+	-	
+	+	27	0	27
-	-	13	46	59
Total	Total	40	46	86

ADx ARMS , 敏感性67.5%。特异性100%

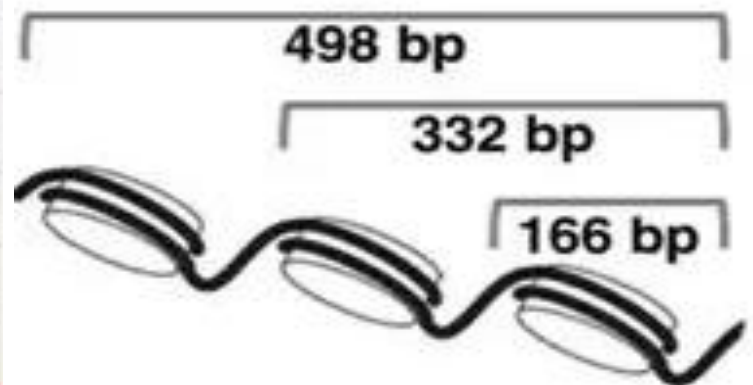
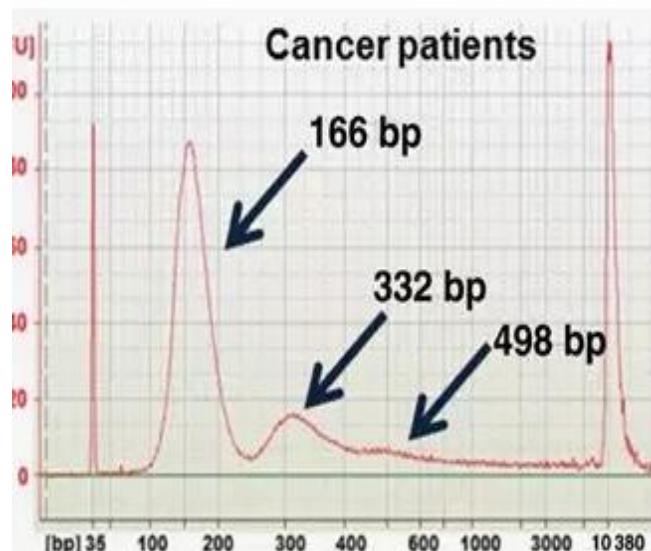
## 血液和组织比较 美国

EGFR TKI-sensitive mutations	cfDNA EGFR mut <sup>+</sup>	cfDNA EGFR mut <sup>-</sup>	Total
Tumor tissue EGFR mut <sup>+</sup>	72	24	96
Tumor tissue EGFR mut <sup>-</sup>	5	137	142
Total	77	161	238

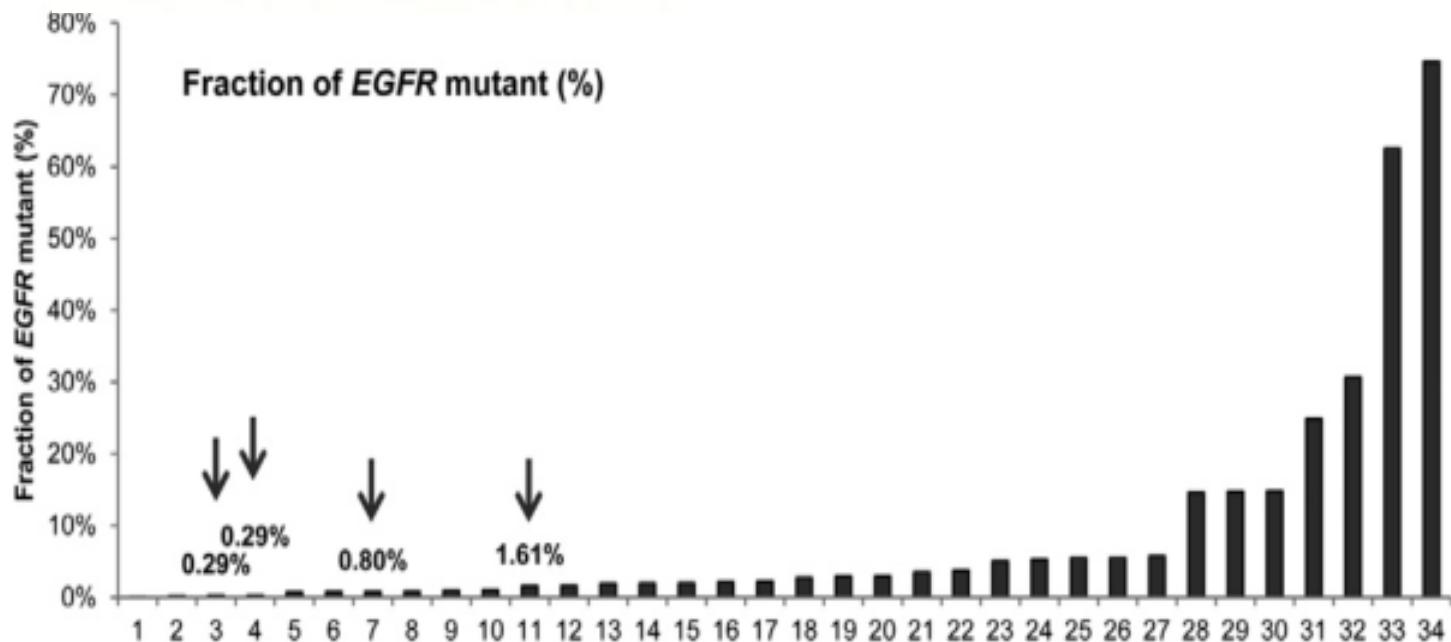
Roche ARMS 敏感性: 75%, 特异性: 96%.

# 血液ctDNA特点决定对技术灵敏度的要求

特点一：  
DNA片段化严重，  
多集中在200bp以内



特点二：  
在cfDNA中所占  
比例总体较低

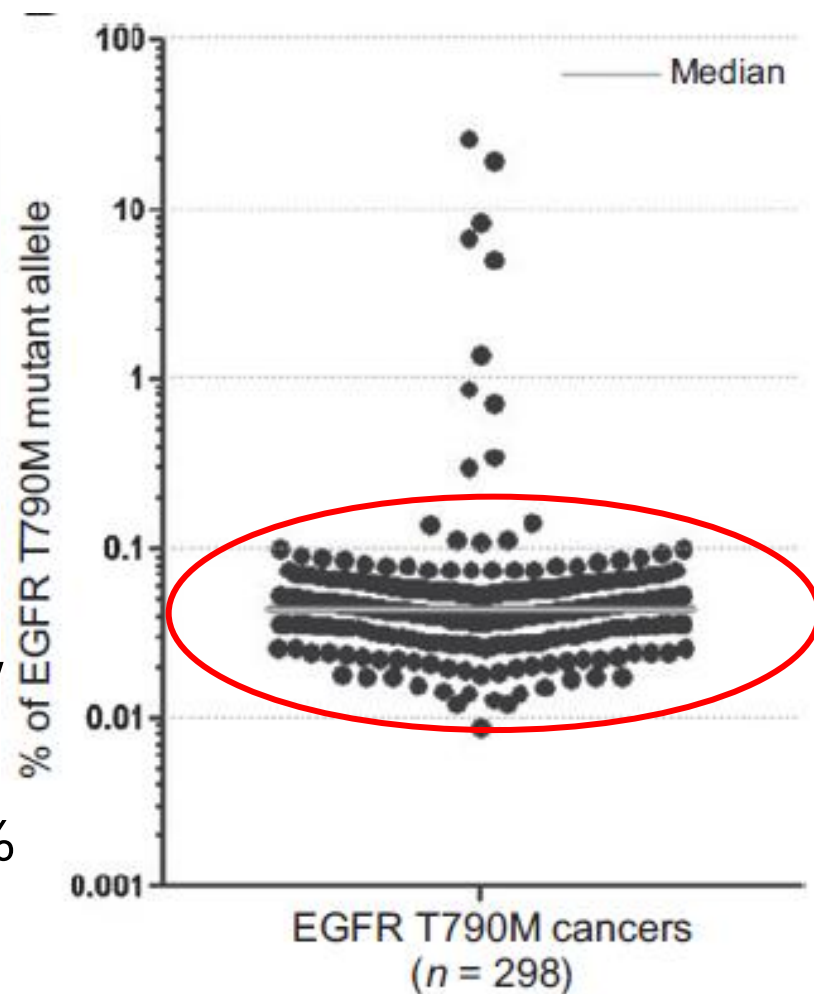


# 血液ctDNA耐药T790M突变检测挑战

**Table 2.** Allele frequency of the EGFR T790M mutation in pretreatment NSCLC tumors harboring EGFR-activating mutations

% of MT allele	Samples, <i>n</i> (%)
≥10%	2 (0.5)
≥1%	4 (1.1)
≥0.1%	10 (2.7)
≥0.01%	281 (75.3)
≥0.001%	1 (0.3)
Negative	75 (20.1)

- 373例初治的患者，298例患者存在T790M突变，比例高达约**80%**；
- 突变丰度<1%的患者比例为**98%**，突变丰度>1%的患者比例仅为**2%**；
- 目前，ARMS法的灵敏度为1%，无法检测绝大多数T790M突变；
- ARMS → 更高灵敏度方法



# ddPCR用于血液EGFR E19-Dels/L858R检测 --ctDNA vs tissue-

**Table 2** Comparison of *EGFR* E19-Dels and *EGFR* L858R Detected in Plasma cfDNA by ddPCR versus the Status Detected in Paired Tumor Tissue by ARMS

	Tumor tissue		
Plasma cfDNA	+	—	Total
<i>EGFR</i> E19-Dels			
+	18	1	19
—	4	63	67
Total	22	64	86
<i>EGFR</i> L858R			
+	12	3	15
—	3	68	71
Total	15	71	86

灵敏度：81.8%；  
特异性：98.4%.

灵敏度：80%；  
特异性：95.8%.

# ddPCR for EGFR T790M --ctDNA vs tissue--

**Table 1.** Comparison of *EGFR* T790M detected in plasma versus the status detected in paired tumor tissue

Tumor tissue	Plasma		Total
	+	-	
+	13	3	16
-	0	9	9
Total	13	12	25

**Sensitivity: 81%; Specificity: 100%; Concordance: 88%**

Samples collected from patients relapsed from 1<sup>st</sup> generation of EGFR-TKI treatment

# ddPCR技术优缺点

优点：

- 敏感度相对高
- 相对精确绝对定量

不足：

- 只能检测已知突变
- 技术有待普及
- 试剂盒研发不易，敏感度或有瓶颈

应用：

- 目前适用于转化性研究
- 未来有望用于动态监测



# Representative NGS data

**Table 4.** Biopsy and plasma mutation types under the final threshold setting.

Biopsy	Plasma			
	Wild-type	Exon 19 deletion	L858R	Double
<b>All cases</b>				
Wild-type	163	5	15	2
Exon 19 deletion	23	25	2	1
L858R	23	0	26	1
Double	1	1	0	0
<b>Stage I-III A</b>				
Wild-type	65	0	8	1
Exon 19 deletion	13	2	2	0
L858R	15	0	3	1
Double	0	0	0	0
<b>Stage IIIB-IV</b>				
Wild-type	93	5	7	1
Exon 19 deletion	10	23	0	1
L858R	7	0	23	0
Double	1	1	0	0

Data are n.

灵敏度: **54%;**

特异性: **87%.**

灵敏度: **22%;**

特异性: **86%.**

灵敏度: **73%;**

特异性: **86%.**

JTO 2015, 10:

1437 – 1443

(N=63)

Sensitivity: 74%

Specificity: 100%

优点：

- 可检测未知突变
- 检测基因数量不受限

不足：

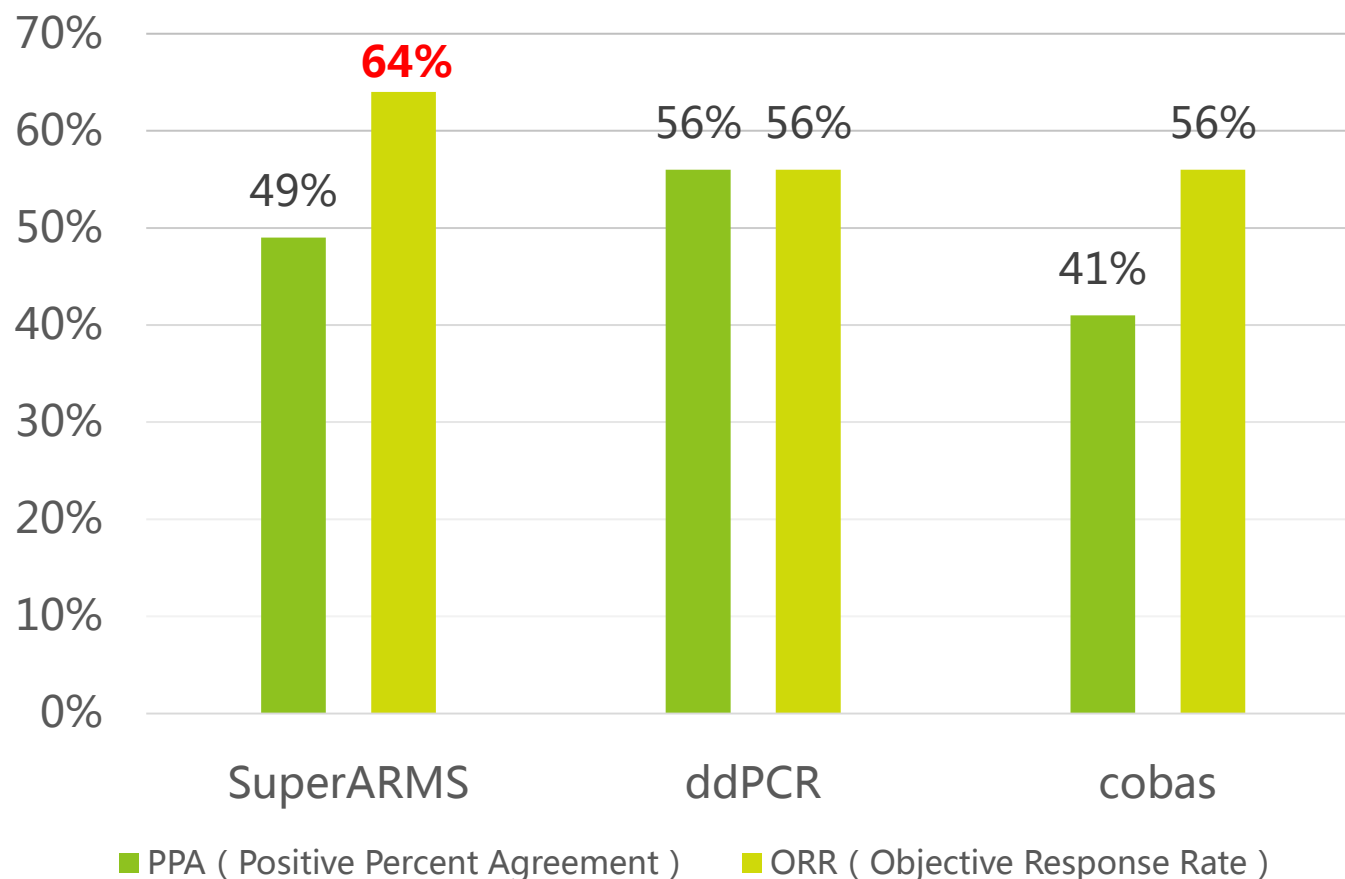
- 建库技术复杂，普及和标准化路漫漫
- 建库过程原始信息丢失严重或成为敏感度潜力发挥限制因素

应用：

- 适于多靶标检测的药物临床研究（Umbrella）
- 适用于未知突变特别是新耐药机制探究
- 未来临床有望用于多基因突变检测

# 血检方法选择标准： 技术灵敏度？疗效预测准确性？

## AURA 17 扩展研究：比较三种技术平台与组织T790M检测的一致性



方法学越灵敏  
 $\neq$   
疗效预测越准确

# 艾德生物Super-ARMS EGFR检测试剂 ——国内首个伴随诊断产品获批上市

AmoyDx  
艾德生物

突破

检测灵敏度的革命性升级

专利

国内完全自主知识产权

品质

伴随诊断试剂的审批标准



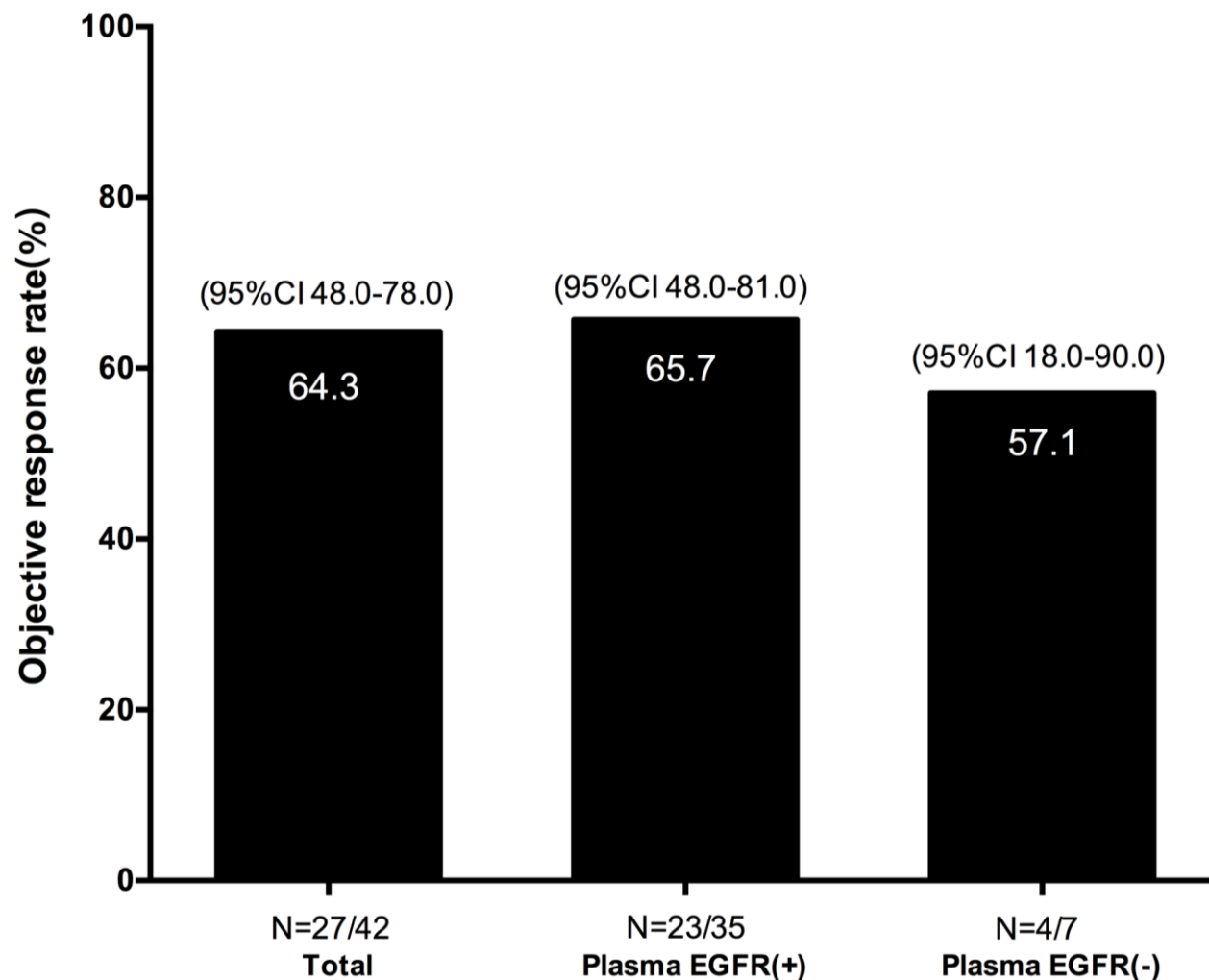
(国械注准20183400014)

- ✓ CFDA首次参照FDA伴随诊断试剂标准审批
- ✓ 经临床验证可指导EGFR靶向药物治疗
- ✓ 高品质、严格质控、可及性强

# Super-ARMS EGFR检测与组织一致率达82% 艾德生物

	Tumor Tissue			Total
		Mt	Wt	
Plasma	Mt	50	0	50
	Wt	11	48	59
	Total	61	48	109
Sensitivity	82.0% (72.3%-91.6%)			
Specificity	100% (100.0%-100.0%)			
PPV	100.0% (100.0%-100.0%)			
NPV	81.4% (71.4%-91.3%)			
Overall agreement	89.9%( 84.3%-95.6%)			

# Super-ARMS检测结果可用于指导临床用药



血检EGFR突变患者一线  
使用EGFR-TKI治疗

ORR 65.7%  
DCR 97.1%

与组织结果一致

# Super-ARMS基于ARMS技术的升级革命

## 全新的引物设计思路 & 最优化的体系配方

修饰及改造  
引物序列



提高低拷贝模板的特异  
结合能力

优化  
扩增体系



提高并保证扩增效率，  
更适合血液标本特性

引入  
BLOCK技术



封闭野生型干扰

启用全新  
酶系统



进一步保证引物特异性  
，降低碱基错配概率

Super  
ARMS

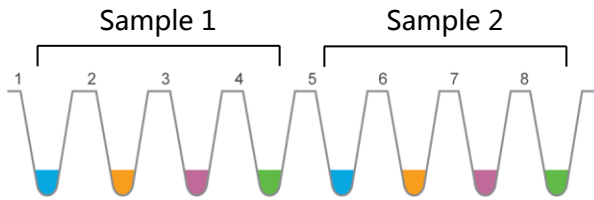
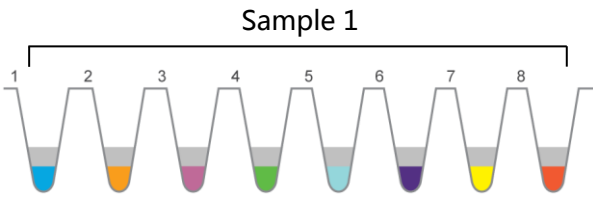
0.2%

灵敏度

ARMS

1%

# Super-ARMS操作上实现ADx-ARMS无缝转换

	Super-ARMS	ADx-ARMS
适用机型	适用多数临床常见荧光PCR仪	
操作流程	操作流程基本一致，最大程度保留ADx-ARMS使用者的操作习惯	
适用样本	更适用血液标本特性	组织及血液标本
通量	<p>四个荧光通道，一个测试仅需4孔， 96孔板最大检测通量为22测试</p> 	<p>两个荧光通道，一个测试需8孔， 96孔板最大检测通量为10测试</p> 
上机时间	120分钟（程序与ADx-ARMS不同）	90分钟

Super-ARMS®试剂盒相较ADx-ARMS®操作及程序略有不同，使用前请仔细阅读说明书



# Super-ARMS技术产品特点

## 【Super-ARMS】

### Key Features and Benefits

**Specific**



特别适用血液标本特性

**User-friendly**



预分装、适用多种常见机型

**Precise**



高灵敏度、可达0.2%

**Extensive**



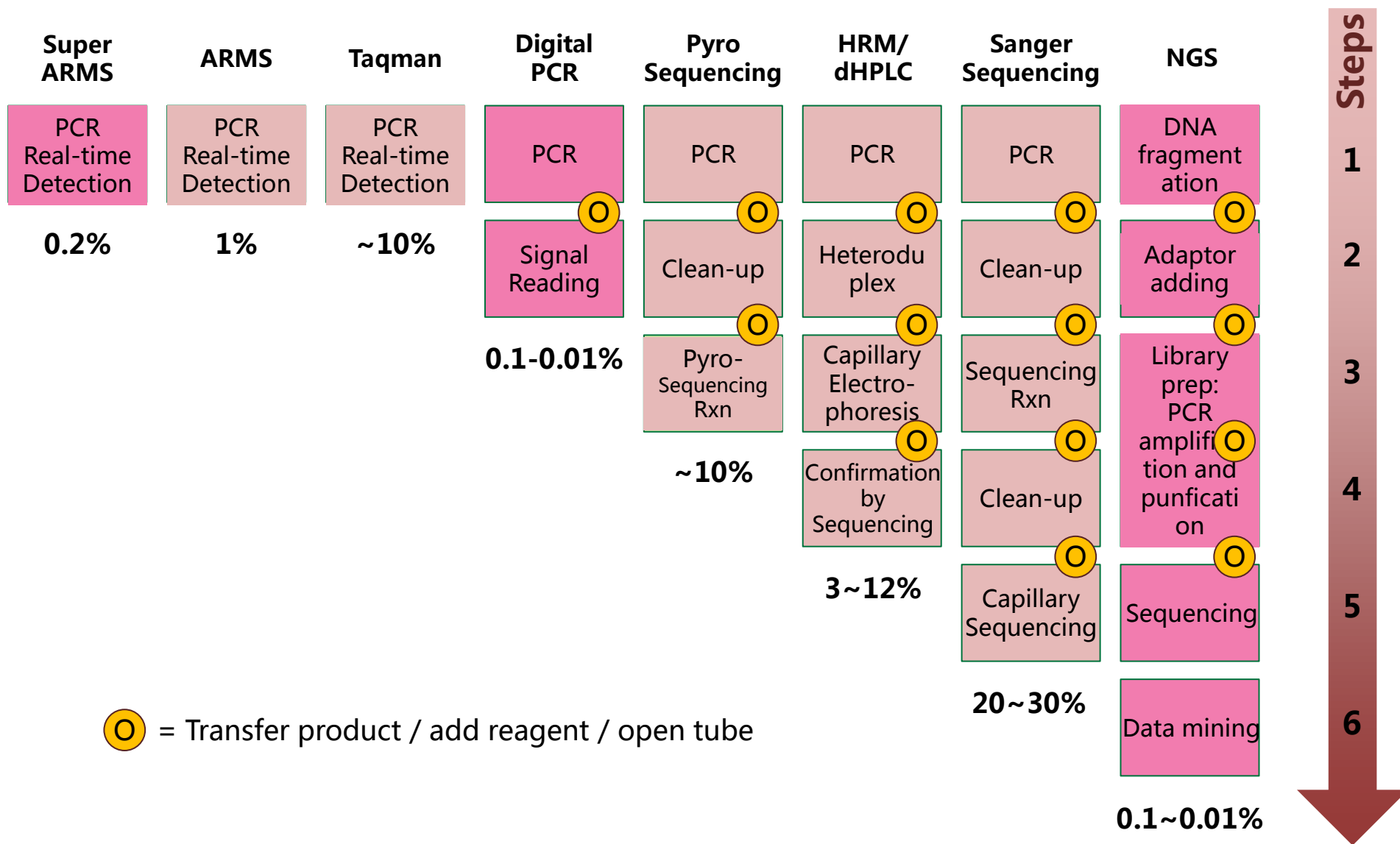
覆盖绝大多数突变类型（EGFR 42种突变）

**Rapid**



一步加样、120分钟获得结果

# 血液ctDNA检测技术的比较与选择



# ASCO/CAP Expert Review Panel Key Point



JOURNAL OF CLINICAL ONCOLOGY

ASCO SPECIAL ARTICLE

Circulating Tumor DNA Analysis in Patients With Cancer:  
American Society of Clinical Oncology and College of  
American Pathologists Joint Review

## CONCLUSION

ctDNA assays could play a future role in the treatment of patients with cancer. Despite the extremely high level of current enthusiasm, deployment of ctDNA assays in routine clinical practice requires evidence of clinical utility. **There is little evidence of clinical validity and clinical utility to support widespread use of ctDNA assays in most patients with advanced cancer, with the exception of those with demonstrated clinical utility or those with regulatory approval.** The increasing uptake of ctDNA assays in clinical care highlights the clear demand to inform clinical decision making. Robust research is needed in several areas, as discussed in this article, to enable development of clinical practice recommendations. Tumor genotyping is a rapidly evolving area of research in many areas of cancer care. Over time, it is highly likely that evidence will emerge to enable better assessment of the clinical validity and utility of ctDNA assays.

除了经监管机构（如CFDA/FDA）批准和有充足临床应用数据证明的方法外，没有足够的临床有效性和应用数据支持在晚期癌症患者中广泛使用血液检测

**建议选择CFDA批准且具有充足临床应用数据的方法**

# 目录

1  
临床应用

2  
技术选择

3  
规范流程

## 「01」 病理组织分型

- 中国NSCLC患者EGFR突变率约为30~40%
- 腺癌患者的突变率大大高于非腺癌患者，约40~50%
- 鳞癌中的EGFR突变率约5~10%

## 「02」 肿瘤分期

- 肿瘤分期越高，ctDNA检出率越高
- 相对于原发癌，ctDNA在转移癌中检出率更高

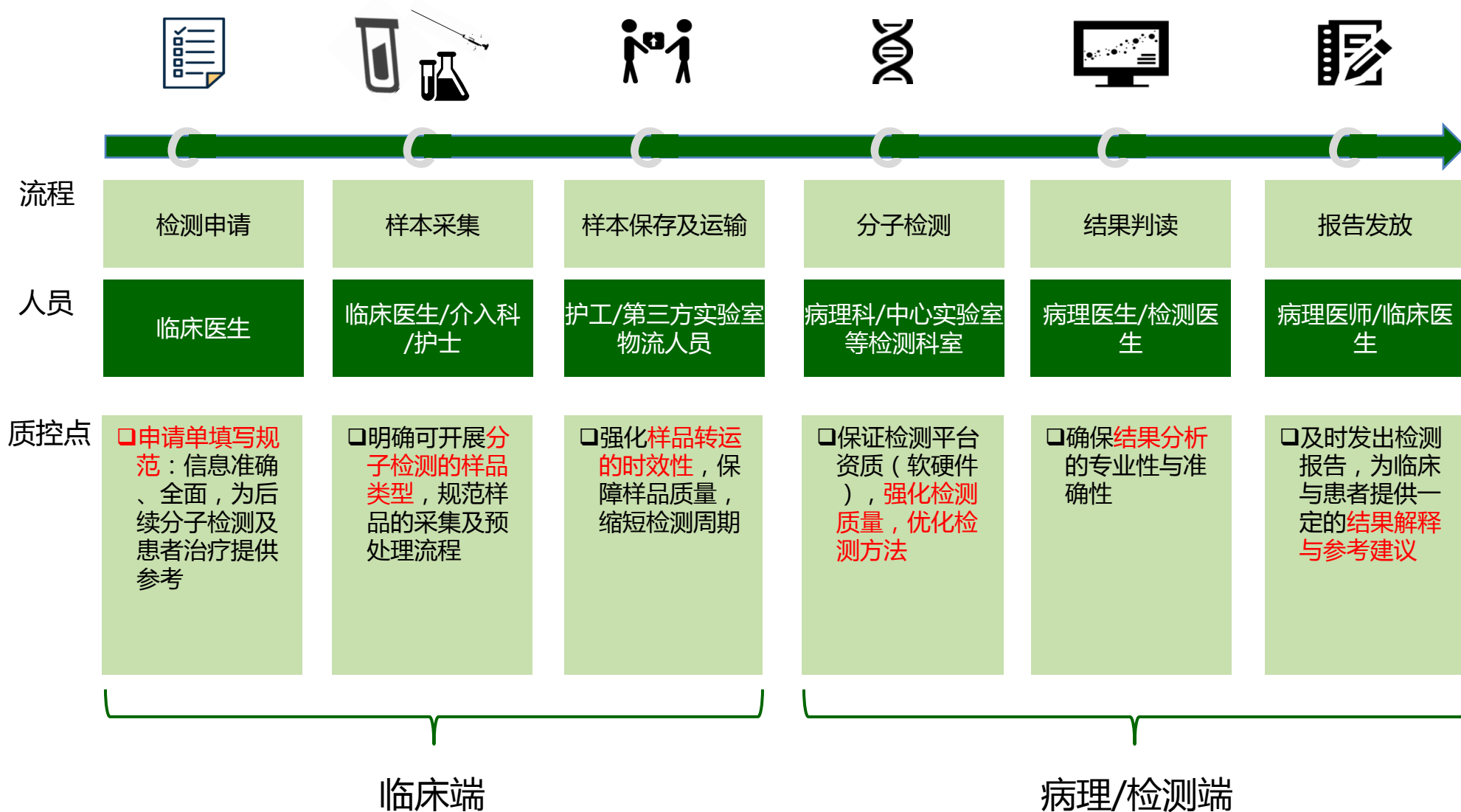
## 「03」 用药及疾病进展

- 初诊初治的晚期NSCLC突变率约为30~40%
- 药物治疗过程中，EGFR突变情况以及ctDNA的浓度可能发生变化
- EGFR T790M突变为继发性耐药突变，突变率约30~50%

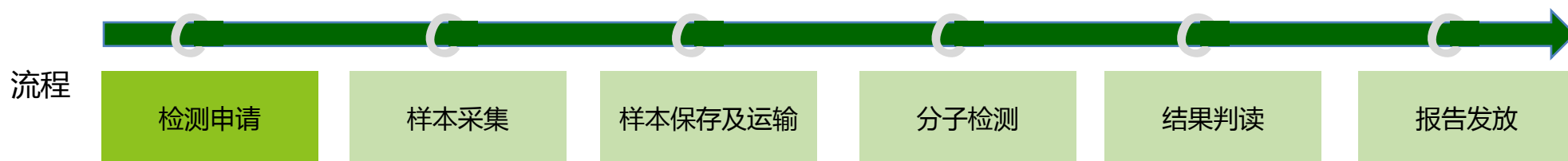
## 「04」 ctDNA质量

- 血液最终提取的DNA中ctDNA的含量及质量直接影响EGFR阳性率
- 包括样本采集量、选用的采血管、血浆分离时间及质量、核酸提取过程等

# 血液检测全流程质量管理



# 血液检测质控注意事项：检测申请



## 选择正确的患者

- ✓ **初治患者**：IIIB-IV期的非小细胞肺癌患者；
- ✓ **耐药患者**：初次检测为EGFR敏感突变，进行EGFR-TKI治疗之后发生了耐药，临床表现为疾病进展；
- ✓ **动态监测**：化疗或者靶向治疗过程中监测



# 血液检测申请单的设计与填写意义

非小细胞肺癌血液及体液 ctDNA 检测信息登记表

患者基本信息				
姓名	性别	年龄	吸烟史	
住院号	送检科室	病理诊断	肿瘤分期	
既往检测史				
EGFR 基因检测史	<input type="checkbox"/> 有 (如有, 请描述) <input type="checkbox"/> 无			
EGFR 样本类型	<input type="checkbox"/> 组织	<input type="checkbox"/> 胸水	<input type="checkbox"/> 脑脊液	<input type="checkbox"/> 血液
EGFR 检测方法	<input type="checkbox"/> ARMS	<input type="checkbox"/> ddPCR	<input type="checkbox"/> NGS	<input type="checkbox"/> Sanger 测序
EGFR 检测结果与时间				
既往治疗史				
1 <sup>st</sup> EGFR-TKI 治疗史	<input type="checkbox"/> 有 (如有, 请描述) <input type="checkbox"/> 无			
TKI 服用起始时间	TKI 服用终止时间			
影像学 PD 进展证实	<input type="checkbox"/> 有 <input type="checkbox"/> 无			
患者脑转移是否发生	<input type="checkbox"/> 有 (脑实质转移/脑膜转移) <input type="checkbox"/> 无			
目前是否接受化疗/放疗	<input type="checkbox"/> 有 <input type="checkbox"/> 无			
送检项目信息				
样本类型	<input type="checkbox"/> 血液	<input type="checkbox"/> 胸水	<input type="checkbox"/> 脑脊液	<input type="checkbox"/> 其他
方法学	<input type="checkbox"/> ARMS	<input type="checkbox"/> ddPCR	<input type="checkbox"/> NGS	<input type="checkbox"/> 其他
位点选择	<input type="checkbox"/> T790M	<input type="checkbox"/> 19 del	<input type="checkbox"/> L858R	<input type="checkbox"/> L861Q
	<input type="checkbox"/> G719X	<input type="checkbox"/> S768I	<input type="checkbox"/> 20ins	<input type="checkbox"/> 全位点
注意事项				

- 抽取 10 mL 外周血, 置于 EDTA 抗凝管 (紫色), 切忌使用肝素抗凝管;
- 样本收集后, 上下轻轻颠倒 7-8 次, 需要在 2 h 内进行分离处理;
- 样本质量与是否空腹无关, 但尽量在采血前 1 h 避免饮水;
- 对于耐药检测患者, 建议选择 T790M 和原发敏感突变联合检测;

注: 本信息收集目的-了解影响检测的临床因素, 为临床医生和患者提供更加准确的检测结果;

登记医师: \_\_\_\_\_

登记时间: \_\_\_\_\_ 年 \_\_\_\_\_ 月 \_\_\_\_\_ 日

## 肺癌分子检测申请单设计与填写的意义:

- 有效区别初治患者和耐药患者, 区隔检测结果;
- 排除不良影响因素, 提供更准确检测结果;
- 了解临床影响因素, 更好解释初治/耐药检测结果;
- 探索某些临床因素对于耐药检测结果影响;
- 完善患者信息管理, 推动肺癌多学科治疗;



# 血液检测质控注意事项：样本采集

流程



## 采血管的选择 (建议采集**10ml全血**)

### 常规EDTA抗凝管



- 采集全血后**2小时内**充分离心分离血浆
- 分离出不含有细胞成分的血浆，放置于-80℃冻存直至DNA抽提，或直接进行DNA抽提

### 含保护剂的专用常温采血管



- 常温 (10-37℃) 放置**不超过5d分离血浆**
- 分离出不含有细胞成分的血浆，放置于-80℃冻存直至DNA抽提，或直接进行DNA抽提

### 肝素抗凝管



- 肝素使DNA抽提得率降低
- 肝素在DNA提取过程中难以去除
- 肝素使PCR扩增效率降低

# 血液检测质控注意事项：样本保存及运输

流程



「01」

## 常规EDTA抗凝管

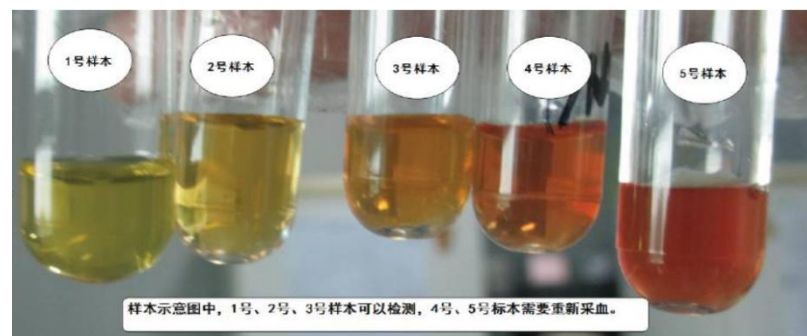
- 采集2小时内进行血浆分离
- 分离血浆体积一般不少于4ml
- 离心前临时保存应暂放于2~8℃冷藏
- 分离血浆后若储存，-80℃冷冻最佳

「02」

## 含保护剂的专用常温采血管

- 10ml全血（4-25℃，保存1-5天）
- 注意空的采血管务必室温保存

## 不同程度溶血情况对比



严重溶血下，标本不可用，血红蛋白及其代谢产物可能抑制Taq酶活性，使PCR扩增效率明显降低



血脂过高，使血浆呈乳白色，低密度脂蛋白对荧光有屏蔽和吸收作用，故对Real Time PCR有干扰

# 血液检测质控注意事项：分子检测

流程

检测申请

样本采集

样本保存及运输

分子检测

结果判读

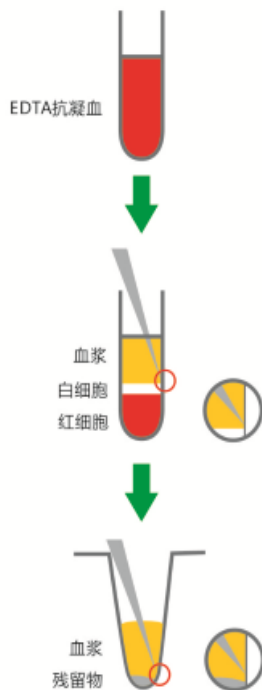
报告发放

## 血浆分离及DNA提取

- ✓ 使用10ml全血分离出的血浆
- ✓ 采用国家药监部门批准的、大容量血浆游离DNA分离试剂盒

## 血液EGFR基因突变检测

- ✓ 检测方法必须进行严格的验证及质控，须使用经CFDA批准的检测试剂盒
- ✓ 推荐使用高敏感度的检测方法，如CFDA新近批准的Super-ARMS法
- ✓ 检测应在具有资质的检测中心进行



收集EDTA抗凝全血10mL。

离心机模式调为rcf模式，将10mL抗凝全血2000xg离心10min。

取上清，将上清移到新的离心管中；吸取要慢且枪尖离白细胞层2-3mm，以免吸到白细胞层。

将上一步骤获取的上清再8000xg离心10min。

取上清，将上清移到新的离心管中，吸取时要慢且枪尖离底部残留物2-3mm。此上清即为血浆。

注：离心过程中离心机均须调为rcf模式。

# 血液检测质控注意事项：结果报告

流程



## 样本信息

- 患者样本编号或病理号和基本信息（姓名，性别，年龄）
- 患者的样本信息（临床诊断，病理诊断，肿瘤分期，标本来源，采集时间，DNA质量，接收日期等）

## 检测项目及方法

- 检测范围及位点
- 检测方法
- 检测试剂及仪器
- 血液检测结果为阴性时，报告为“标本未检测到突变”，并补充“基于检测技术和标本的限制建议患者取活检再次检测”

## 临床意义

- 对检测结果进行临床解读，**明确指出基因检测结果与靶向治疗的关联**

## 报告周期

- 组织检测不超过5-7个工作日
- 血液检测不超过2个工作日



## □ 保证EGFR检测阳性率的关键因素



DOs

### 正确的病人

- EGFR敏感突变史
- TKI治疗进展后未接受其他治疗

### 正确的采集和转运

- 空腹采血
- 专用常温采血管/EDTA管
- 采血后轻柔反转试管8-10次，使试管内化学物质与血浆充分混匀
- EDTA管2h内/常温采血管3d内分离血浆

### 正确的检测

- 使用血液标本时，
- 使用cfDNA回收率高的提取试剂盒并进行质量评估
- 选择高敏感度平台和试剂：Super-ARMS, ddPCR



DON'T

- 新发病人
- 既往未进行EGFR敏感突变检测
- 正在化/放疗的病人，待治疗2周后
- 炎症患者，待白细胞降低后

- 普通血浆DNA提取试剂盒
- ARMS 1.0，EGFR血检试剂盒

- 不可剧烈震动
- EDTA采血管不可2h后分离血浆
- 专用常温管不可低温冷藏



# 总结

- ✓ 血液检测可帮助医生和患者快速获取分子检测结果，其无创性、快速、可实时监测的特性是组织检测的有效补充。也给部分无法获取组织或耐药患者提供了分子检测的机会
- ✓ 血液检测主要应用于三类人群：初治的晚期NSCLC患者EGFR突变状态的快速筛查；经一代/二代EGFR-TKIs治疗耐药后的NSCLC患者的首选检测；化疗复发进展但尚未使用EGFR-TKIs的NSCLC患者；血检阳性结果可作为一线靶向用药的确认性结果
- ✓ 血液检测方法建议选择具有CFDA/FDA批准上市、且有充足临床应用数据的方法
- ✓ 规范的检测全流程，其中尤其要保证正确的病人、正确的采集和转运、和正确的检测平台与试剂，才能保证得到最精准的检测结果，指导临床治疗方案，最大程度惠及患者。
- ✓ 液态活检因为样本本身的限制，更加亟需规范。



# Thanks

AmoyDx  
艾德生物

知 | 而 | 治 | 之

**厦门艾德生物医药科技股份有限公司**

地址：厦门市海沧区鼎山路39号 361027

No. 39, Dingshan Road, Haicang District, Xiamen, 361027, China

电话：4000-650-680 传真：0592-6806839