

精準醫療分子檢測實驗室檢測技術指引

—次世代定序應用於腫瘤檢測

(草案)

Guidance on Laboratory Developed Test for Precision Medicine Molecular Testing—Next Generation Sequencing (NGS) applied for the Diagnosis of Oncology

一、前言

實驗室在發展次世代定序基因檢測套組時，須明確定義檢測的使用目的（例如：僅檢測原發腫瘤，或是監測治療後殘存疾病）、使用的檢體類型，並評估需要放入報告的檢測資訊為何。這些考量因素將會影響檢測的設計、確效，和品質管控。本指引將列舉出影響次世代定序檢測運用於癌症腫瘤檢測上的分析確效及後續品管的基本要求，提供各實驗室執行次世代定序技術確效之依循。

二、中英文名詞對照

英文	中文
annotation	(變異) 註解
base calling	鹼基偵測
copy number variant, CNV	拷貝數變異
depth of coverage	定序深度、稱覆蓋率深度
fusion	融合
germline	生殖系
heterozygous	異型合子
homozygous	同型合子
homologous recombination deficiency, HRD	同源重組缺陷
identification	(變異) 確認
insertion/deletion, indel	插入/缺失變異

interpretation	(變異) 判讀
library	基因庫
map	定位
microsatellite instability, MSI	微衛星不穩定性
pan-cancer	泛癌
read	定序片段
read alignment	定序片段比對
rearrangement	重排
single nucleotide variant, SNV	單核苷酸變異
structural variant, SV	結構變異
translocation	易位
tumor mutation burden, TMB	腫瘤變異負荷量
variant allele frequency, VAF	變異頻率

三、適用範圍

本指引適用於次世代定序技術應用於實體腫瘤、血液惡性腫瘤及遺傳性腫瘤之目標基因檢測套組。

四、檢測設計考量

檢測設計須符合檢測預期用途，設計考量須包括但不限於以下項目：

(一) 檢測基因套組

納入檢測套組的基因須對疾病的診斷、預後或治療具有充分科學依據，而檢測基因套組大小會因檢測預期用途不同而不同，如：若預期用於尋找治療標靶或招募特定臨床試驗病人，則常被設計為泛癌套組並帶有大量基因，其中包括許多科學證明與療效相關的基因；若專門為診斷和預後設計的套組，則套組內容通常具有腫瘤特異性，往往規模較小，並且僅包含直接與腫瘤相關的基因。

(二) 檢測基因區段

基因區段範圍可侷限在與治療相關的變異熱點，或是更廣泛地包含相鄰的基

因區段，或甚至是整段基因序列。

(三) 檢測基因變異類型

變異類型有：單核苷酸變異、小片段插入/缺失變異、拷貝數變異、結構變異、基因融合、微衛星不穩定性、腫瘤變異負荷量及同源重組缺陷等。

五、 檢體類別

須依檢體類型使用適當方法(如 H&E 染色、流式細胞儀等)來評估檢體是否具有適當腫瘤細胞含量，而檢體類型包括血液、骨髓、實體腫瘤等。

六、 影響檢測因素及各步驟執行建議

(一) 基因庫製備方法

基因庫製備是產生特定大小的 DNA 或 cDNA 片段的過程，製備方法包括雜交捕捉法和擴增法。

(二) 定序方法

定序方法具有不同的化學原理，包括合成法、離子半導體法等。

(三) 生物資訊分析流程

生物資訊分析流程需要包含下列四個主要步驟：鹼基偵測 (base calling)、定序片段比對 (read alignment)、變異確認 (variant identification)、變異註解 (annotation)。

1. 各種不同的變異類型各自需要不同的電腦演算法來偵測變異。
2. 需要依據檢測的設計來決定使用的生物資訊分析軟體。

(四) 定序深度

定序深度可以根據檢測極限、定序片段品質，以及對偽陽性或偽陰性結果的容忍度來估算。應該在檢測研發階段就估算這些效能內容，幫助確立檢測確效的允收標準。

(五) 定序平台

在選擇定序平台和方法時，必須考慮許多因素。重要考慮因素可包括：所需處理時間、待測檢體類型、敏感度要求、預期的檢測量能、待測變異的種類與複雜度、套組規模（基因數量和定序覆蓋率）、生物資訊分析輔助工具的

占比、實驗室設備、實驗室可用資源（尤其是運算資源），以及儀器費用和執行確效費用等。

(六) 潛在錯誤評估

持續使用以錯誤為導向的評估法有系統地辨識出檢測失敗的可能原因。三個層面可以找出錯誤的來源：檢測的設計、確效的方法，以及品質的監控。

(七) 檢測優化和熟悉化

實驗室執行確效前，可以使用實際樣本或數據模型，進行檢測的優化和熟悉化。優化和熟悉化階段需要包括從樣本及基因庫製備，到定序及變異偵測的所有階段，此階段找出檢測過程的意外問題，並進行必要的檢測更改。

(八) 基因庫定序複雜度

實驗室須依檢測需求選用適當之方法評估基因庫複雜度。

七、效能及確效內容建議

整個次世代定序的確效須包含：準確度、精密度（重複性、再現性）、可報告範圍、參考範圍（正常範圍）、分析敏感度（偵測或定量極限）、分析特異性（干擾物質），以及其他相關內容（如：交叉汙染）。確效計畫應該明確定義所使用的樣本種類與數量，並依檢測需求建立確效內容的允收閾值，且須包含生物資訊分析流程的確效。

(一) 確效計畫

1. 確效計畫須在實際執行前擬定完成，且計畫內容須描述整個確效流程。
2. 確效計畫須闡述使用目的、決定確效樣本の種類、檢測效能設立及允收閾值。
3. 檢測效能及允收閾值應針對每種欲檢測的基因變異類型分別建立，效能指標須評估所需最少數據才能建立，而研發、優化與熟悉化階段所收集的數值可用來建立檢測效能及允收閾值，亦可用來決定執行確效所需的樣本種類與數量。

(二) 確效所需的樣本類型與數量

1. 依照預設檢測目的，使用一系列序列明確已知的對應樣本類型，將可能的變因最大化，使確效結果足以代表整體的檢測效能。
2. 可使用以錯誤為導向的方式進行確效，並建立相關效能內容。

3. 針對不同樣本類型，應評估且使用合理的樣本數量來進行確效。
4. 建議儘可能納入帶有臨床檢測用途熱點變異的樣本。
5. 可將真實檢體與電腦模擬數值併行使用。
6. 建議納入至少兩個帶有已知變異點序列的樣本（如：HapMap 細胞株、NA12878 等已知變異之細胞株）。
7. 須使用合理數量的樣本，具有適當濃度，並包含各種變異類型及檢體類型，且至少達 90% 以上的一致性。
8. 未累積到足夠確效樣本的變異類型，實驗室可使用適當的品管物。

(三) 準確度

1. 須使用參考物或參考方法來確定一致率。使用參考方法時，可以搭配不同的參考方法組合，但是必須在收集確效數值之前確定。
2. 須針對每種變異類型（例如：單核苷酸變異、小片段插入/缺失、大片段插入/缺失、拷貝數變異、結構變異等）計算其陽性一致率。計算方式如下表：

		確認試驗		總計
		陽性	陰性	
檢測	陽性	A	B	A+B
	陰性	C	D	C+D
總計		A+C	B+D	A+B+C+D

陽性一致率=A/(A+C)。陽性預測值=A/(A+B)。

3. 可以使用帶有已知變異的樣本，同樣的變異類型應該包含適當的陽性變異數量。此外，應該儘可能包括常見的致病性變異。
4. 大片段插入/缺失變異或結構變異的樣本可能較難取得，因此實驗室可以使用另一種經過確效的檢測方法進行確認，直到樣本數量足夠為止。也可以使用適當的品管物，或是在檢測報告中明確說明檢測限制。
5. 在分析確效數值時，應確定並記錄每個樣本的陽性一致率（包括平均值、標準差、信賴區間(confidence interval)、容許差(tolerance interval)、可靠性(reliability)等）。

(四) 精密度（重複性、再現性）

1. 至少應包含陽性及陰性樣本，樣本經過所有檢測步驟，且包括所有儀器、不同測試人員，以量化每個檢測步驟可能產生的變因。
2. 應進行重複性（同次間）和再現性（不同次間）的測試。
3. 需要先預設精密度的允收標準。如果未達允收標準，需要進行額外的實驗以評估變因的來源。
4. 如果使用不同的條碼將檢體混合，則必須確效檢體與條碼之間沒有交叉干擾，並且不論使用哪種檢體/條碼的組合，在所有目標區段和所有變異類型均有再現性結果。

(五) 可報告範圍與參考範圍

1. 可報告範圍應該包括滿足最低品管需求的目標基因區段、已確效的變異類型，以及這些區段的檢測極限。
2. 可報告範圍應該與檢測方法和檢測極限制一起納入檢測報告，使閱讀報告者清楚了解此項檢測不會檢測到哪些基因區段、變異，以及等位基因負擔(allele burden)。
3. 參考範圍可以依檢測的預期用途而異，實驗室可以選擇報告所有檢測到的變異，或是僅報告被認為具有臨床意義的變異。
4. 參考範圍必須納入報告中，使閱讀報告者可以清楚地了解將報告或不報告的變異類型。
5. 可報告範圍和參考範圍取決於檢測的預期用途，應該在確效過程確定。

(六) 偵測極限(分析敏感度)

建議使用混合細胞株或敏感度品管物（可以為質體或人工合成物質）來確效偵測極限，並針對每種變異類型評估其最低檢測極限。

(七) 追溯性

如有國際標準品可採用時，實驗室應追溯至國際標準品，如為標準品應追溯至標準法。如無國際標準品可採用時，實驗室須自行建立標準品作為確效依據。

(八) 干擾物與殘留

1. 應列出已知會影響分子檢測的干擾物。
2. 應在檢測設計及確效時考慮殘留物的影響，尤其在檢測低變異等位基因頻率的變異上。應在每個批次帶有無模板品管物（no template controls,

NTC)，確效擴增步驟中沒有產生相鄰反應管的殘留物。無模板品管物不必參與整個定序步驟，作為擴增步驟的品管點便已足夠。可以使用生物資訊方法檢測人與人之間的跨檢體污染以及殘留物。應該制定操作程序以避免殘留物從一個檢體轉移到另一個檢體。

八、 檢測品質監控

次世代定序技術的品質管理、品質保證以及品質參數的測量，會根據檢測平台與檢測所涵蓋範圍的複雜程度而不同。應針對特定檢測方法建立品質管理措施，並且將這些措施運用於每次檢測。

(一) 樣本需求

次世代定序技術的品質管理、品質保證以及品質參數的測量，會根據檢測平台與檢測所涵蓋範圍的複雜程度而不同。應針對特定檢測方法建立品質管理措施，並且將這些措施運用於每次檢測。

(二) 核酸需求

1. 應建立標準化的核酸定量流程，以確保結果的準確性和可重複性。
2. 應建立品質管控方法，明確定義分析前的檢體品質。
3. 應根據檢測的敏感度，準確評估檢測出變異所需要的最少核酸量，並且必須建立調整核酸投入量的方法。

(三) 基因庫要求

1. 應監控基因庫的品質，並將使用的方法標準化。
2. 應該採取特定方法降低引子二聚體 (primer dimer)、轉接子二聚體 (adaptor dimer)，以及高分子量寬帶 (broader bands of higher molecular weight) 的量，並且應該進行基因庫的定量。

(四) 分析效能的核心品質監控內容

1. 應確立確效計畫、標準作業流程的核心效能品管內容，並且在每次處理檢體時都必須使用相同的內容來管控檢測效能。包含：所有重要新批號試劑的分析敏感度、定序深度，以及定序覆蓋率均一度 (uniformity of coverage)。
2. 應遵循所有品質監控內容(QC metric)，並依照時間記錄，以確保完整的檢測效能。

3. 實驗室應自行定義標準與控管所有品質內容的方法，以確保最佳分析效能，可以包含以下品管內容：核酸的質與量、基因庫的定性與定量、定序深度、定序覆蓋均一度、GC 偏差、基因叢密度與比對率、鹼基偵測品質(base call quality scores)、基因定位品質(mapping quality)、重複定序比率(duplication rate)、序列偏差(strand bias)等。

(五) 品管物

品管物可以使用以下三類物質：正常序列之參考細胞株、合成的 DNA 片段，以及變異序列明確已知的細胞株。

1. 當確效數據不足時，實驗室可以使用品管物來控管檢測步驟，找出檢測的可能誤差來源，以及避免檢測錯誤對病人造成的潛在傷害。可以針對檢測過程的每個步驟設計品管物，也可使用單一品管物控管多個步驟。
2. 若確效數據顯示無法保證大於 90%以上的可信度，則建議每次都應該帶有敏感度的品管物，以確保在最低檢測極限下仍可偵測到目標變異基因。

(六) 確認試驗

實際提供臨床檢測服務時，可以使用確認試驗來檢測意外或令人困惑的檢測結果，確認方法應選擇與敏感度相當的方法來進行。

(七) 能力試驗

實驗室應參與適合檢測項目與檢測結果解釋的實驗室間比對方案(如外部品質評鑑方案，或能力試驗方案)，以持續控管實驗室的檢測效能。

(八) 確效文件

1. 確效文件是實驗室認證的必要證明。確效文件可以包含以下內容：臨床檢測目的、允收檢體類型、包含特殊基因的理由、方法學、試劑與檢測儀器的種類與來源、資料處理與分析的生物資訊分析流程、詳細的檢測步驟、確效檢體的說明、優化與熟悉化的結果、確效結果、效能內容、檢測的允收與退件標準、檢測限制、品質管理/保證內容、品質管理/保證內容等。
2. 建議將確效文件摘錄成實驗室的標準作業流程，供實驗室人員遵守。

(九) 標準作業流程

1. 應總結檢測目的和檢測預期用途。
2. 應描述待測基因區段、待測變異類型、檢體類型，以及相關檢測限制。

3. 應描述整個檢測的每個步驟，從檢體收件、基因庫製備、定序、數據分析到變異解釋等。
4. 若有委託第三方單位執行任何步驟（例如：數據分析和/或變異解釋），應有文件化的程序，以評估與選擇有能力的受委託實驗室或提供任何複雜測試之解釋意見的諮詢顧問。

九、 生物資訊分析流程確效建議及資料庫

生物資訊分析流程影響檢測的實驗設計和實際臨床用途，須將生物資訊分析流程的確效納入整體檢測確效的一部分。生物資訊分析流程確效著重於確效檢測分析方法而非特定分析物，並使用帶有合適變異類型及預期變異基因區段的物質當作參考材料來進行確效。

(一) 生物資訊分析流程確效建議

1. 生物資訊分析流程確效應於研發、優化及熟悉化階段(每階段皆須留有相關紀錄)後執行，確效過程須使用於優化和熟悉化階段建立和使用的軟體版本。如有變更，則須重新進行優化和熟悉化階段，並再次執行確效。
2. 生物資訊分析流程確效可使用一種以上的演算邏輯或軟體來進行，但須針對其臨床檢測目的確立其效能參數。
3. 生物資訊分析流程確效過程盡可能模擬檢測時的真實環境。確效計畫的整體設計和工作流程建議考量檢測的預期用途、待測基因區段、硬體、軟體、資料傳輸、網路資源位置、版本、備援及用戶授權等因素。另外，實驗室建議具備災難復原系統，並使用與實際檢測相同的方式來開發和確效災難復原系統。
4. 生物資訊分析流程通常在執行檢測的實驗室執行，但是也可以將分析流程（包括硬體、儲存裝置、電腦資源）外包給第三方單位。儘管生物資訊分析流程可能由第三方單位開發、確效和管理等，但須確認生物資訊分析流程的組件（包含委外部分）符合認證標準及相關法律規範。
5. 生物資訊分析流程的設計和執行須符合資訊安全及病人隱私等相關適用的法律規範，且須採取適當的安全措施，以保護資料庫中的個人資料及健康資訊隱私性。
6. 須根據檢測的臨床用途、待測檢體、待測變異類型，進行生物資訊分析流

程的確效。

7. 須確保生物資訊分析流程的設計、執行和確效符合實驗室認證的標準和規範。
8. 實驗室須詳細記錄確效流程及內容，紀錄的內容建議包括：檢測方法、檢測值、設置、參數、樣本類型、經組織病理學確認的腫瘤類型、變異類型，及最終核准的生物資訊分析流程的確效計畫等。
9. 生物資訊分析流程使用之檢體須保有可辨識性。
10. 須在確效過程評估特定的品質監控和品質保證參數，並用於訂定生物資訊分析流程的效能。若無法達到預設效能時，須採取改正措施，並說明其限制。
11. 在變異解讀之前，須將變更或過濾定序片段的方法進行確效，以確保用於變異解讀的數據具有準確性與可再現性，且須完整記錄這些變更或過濾的方法，並根據實驗室認證的標準和規範列為文件保存。
12. 實驗室須採取具體措施確保生物資訊分析流程的所有數據都保持其完整性，且相關數據及紀錄檔案須可回溯性。
13. 使用電腦模擬數據僅能用於補足生物資訊分析流程的確效，但不能代替實際檢體對生物資訊分析流程的完整確效。
14. 建議使用一組高品質且各自獨立的代表性變異數據進行生物資訊分析流程的確效，且應依照不同變異類型將確效內容列出。
15. 實驗室建議確保軟體生成的 HGVS 命名和變異註解具有準確性。實驗室應檢查並為每個基因選擇最合適的轉錄本。所選擇的轉錄本和版本應予以記錄。任何類型的自動註解都必須經過完整確效，解讀變異的人員必須準確檢查此類註解，並在必要時將其修改。
16. 只要生物資訊分析流程的任何部分有重大變更，就必須進行再次確效。分析流程變更時，需要對生物資訊分析流程進行補充確效，且變更確效內容須予以記錄。

(二) 常見資料庫及相關建議

1. 基因體學資料庫

基因體學資料庫包含癌症基因體學圖譜 (The Cancer Genome Atlas, TCGA)、有效療法的治療性應用研究 (Therapeutically Applicable Research

to Generate Effective Therapies, TARGET)、癌症基因體學特徵措施 (Cancer Genome Characterization Initiative, CGCI)，以及癌症體細胞變異目錄(Catalog of Somatic Mutations in Cancer, COSMIC)等。

在進行體細胞變異的註解和優先排序時，基因體學資料庫可以提供必要的資訊，但實驗室應該在使用公共資料庫時，建議注意以下內容：

- (1) 瞭解資料庫內容以及匯整數據的方式。實驗室應審查資料庫的文件或已出版文獻，確定資料庫的來源、類型和目的。
- (2) 注意每個資料庫的限制，以避免過度解讀註解。
- (3) 確認人類基因體學組裝 (human genome assembly) 以及 mRNA 轉錄參考 (mRNA transcript reference) 的版本，以確保使用適當的 HGVS 註解，並需要在報告中針對使用的人類基因體學組裝的版本做明確的記錄。
- (4) 查詢基因體學資料庫時，儘可能使用基因體學座標而非 HGVS 命名。
- (5) 評估所引用的資料庫數據的品質，例如：資料庫的來源（從文獻或其他資料庫）、進入資料庫的連結數量（單一或多個）、參考文獻的研究深度、參考文獻是否使用適當的品管物、參考文獻是否確認變異的體細胞來源，以及是否具有功能性和潛在性的藥物反應研究。
- (6) 確效病理診斷結果的數據品質（例如：是否提供部位、診斷、亞型的資訊）。

2. 參考序列資料庫

參考序列資料庫提供人類基因體學組裝版本的相關資訊，可以從這些資料庫計算變異的定位（編碼區、非編碼區、非轉譯區、剪接位點）和正負股。

3. 族群資料庫

族群資料庫提供大量特定人群的特定基因座的次要等位基因頻率資訊。在使用這些資料庫時，建議注意體細胞變異的解讀，因參與這些研究的個體，在參加時是預設為健康或沒有亞臨床疾病的。

另外，於評估血液系統的惡性腫瘤時建議要格外小心，因為白血病

和骨髓發育不良症候群 (myelodysplastic syndrome) 的許多常見變異基因，也可能存在於健康人的血液中，因此可能會錯誤註解為多樣性。

4. 癌症特定資料庫

癌症特定資料庫提供不同癌症和亞型的變異發生率和普遍性，並交叉引用其他基因體學資料庫或文獻（例如：細胞路徑、標靶治療、臨床試驗，以及治療結果）。建議謹慎解讀這些資料庫的變異盛行率和分佈。

5. 生殖系變異資料庫

不論在有/沒有相應正常組織情況下，定序結果都有可能發現生殖系變異，例如：發現與癌症易感症候群(cancer predisposition syndrome) 相關的致病性變異。因此，生殖系變異資料庫（例如：人類基因變異資料庫 (Human Gene Mutation Database, HGMD)）是評估這些變異的有用資源。這些資料庫也可用於評估經過充分研究的體細胞變異（例如：TP53 和 PTEN 基因中的某些變異）。另一個常用的資料庫是 ClinVar，其具有多種罕見生殖系變異（例如：致病性與良性變異）並提供相關臨床和實驗依據。

6. 內部（實驗室生成的）資料庫

建議實驗室針對已註解的變異建立一個內部資料庫，追蹤實驗室偵測到的變異，並提供一致的變異註解。這類資料庫可用來找出因為序列比對造成的假象(artifact)所產生的偽陽性結果，並建立常見癌症類型的變異等位基因頻率。

7. 電腦模擬（計算）預測演算邏輯

電腦模擬預測演算邏輯是預測基因中的核苷酸變化是否會改變蛋白質結構和功能的常用工具。建議不要將這些預測演算邏輯的結果當作變異分類或臨床決策的唯一依據。

十、變異偵測與檢測報告

（一）變異偵測

實驗室須瞭解變異偵測軟體的侷限性並對生物資訊分析流程進行確效，包括商業購買的生物資訊軟體。變異偵測的指標（例如：定序深度、變異等位基因頻率）對於變異解讀很重要，建議納入評估過程。

變異偵測格式建議包含的資訊為：基因體學座標、參考核苷酸、變異核苷酸。尚應該包括其他解讀用資料，以增加有意義且易於辨識的資訊（例如：基因符號、變異位置、變異類型、cDNA 序列變化的 HGVS 命名法、預測的蛋白質序列改變）。

(二) 檢測報告

1. 報告儘可能簡短、簡單、切合實際，須包括所有檢測到的已知臨床重要性的體細胞變異，建議於第一頁明顯處列出帶有致病性或有相對應處置對策的基因變異結果。
2. 若報告中欲描述未知臨床意義的變異，則須清楚地與有致病性或有相對處置對策的基因變異結果明確分開，並註明此變異的臨床相關性為不明。
3. 變異點之描述使用廣泛接受的命名法。
4. 描述此變異點與疾病的相關性。
5. 評估變異等位基因頻率和覆蓋率。若有不符合最低定序覆蓋率的基因和/或熱點均視為檢測失敗，須在報告中聲明。
6. 列出所有變異中與藥物/癌症組合相關且重要的陰性結果(pertinent negative)。如果存在不確定性，則必須在報告傳達，包括：定序品質、樣本是否充足、腫瘤含量、生物醫學知識等。

(三) 載明此檢測之方法學

方法學的詳細資訊建議列在報告的最後，包括檢測方法的描述、檢測的效能內容（尤其是偵測極限和最低定序深度），以及檢測執行時的關鍵品質內容。最終報告建議列出檢測的基因位點、外顯子或熱點。

(四) 載明此檢測之限制

指出檢測侷限性，如：哪些目標區段缺乏足夠的覆蓋率而無法確定變異的狀態、指出特定變異類型的任何限制（例如：插入/缺失變異的最大長度、拷貝數變異等），以及所有變異類型的敏感度等。明確指出可以執行哪些附加檢測，以減少檢測風險。

十一、 再確效建議

- (一) 實驗室可能有必要變更或改進檢測的一個或多個部分（例如：添加其他基因座、使用新版本的試劑或生物資訊分析流程，或將已確效的檢測移至新的定

序儀等)。如果想要變更檢測的任何部分，則必須考慮可能造成的潛在錯誤。某些變更的潛在錯誤可能很小，或者很容易在發生時使用品質監控程序發現到。某些變更（例如：平台變更）則可能需要執行完整的確效。

- (二) 不管變更的重要性為何，建議對後續效能進行確效。至少使用幾個已知樣本從頭到尾進行檢測，以幫助發現意外錯誤。
- (三) 將新的基因或基因體區段添加到現有檢測時，實驗室應進行補充確效，分析大量檢體以確定添加後的效能內容與預期相同。

十二、 參考文獻

- (一) Guidelines for Validation of Next-Generation Sequencing-Based Oncology Panels. A Joint Consensus Recommendation of the Association for Molecular Pathology and College of American Pathologists. (2017)
- (二) Standards and Guidelines for Validating Next Generation Sequencing Bioinformatics Pipelines. A Joint Recommendation of the Association for Molecular Pathology and the College of American Pathologists. (2018)
- (三) Standards and Guidelines for the Interpretation and Reporting of Sequence Variants in Cancer. A Joint Consensus Recommendation of the Association for Molecular Pathology, American Society of Clinical Oncology, and College of American Pathologists. (2017)
- (四) Oncology – Molecular and Cellular Tumor Markers. Next Generation Sequencing (NGS) guidelines for somatic genetic variant detection. New York State Department of Health. (2020)