

# 荧光原位杂交技术在产前诊断中应用的专家共识

荧光原位杂交技术在产前诊断中的应用协作组

目前, G 显带的染色体核型分析技术仍然是细胞遗传学产前诊断的“金标准”, 但该技术具有细胞培养耗时长以及耗费人力的局限性。随着分子细胞遗传学的发展, 新的实验方法不断出现, 并逐步走向临床, 目前, 在临床工作中已开展的有荧光原位杂交 (fluorescence in situ hybridization, FISH)、荧光定量 PCR (QF-PCR)、多重连接探针扩增技术 (multiplex ligation dependent probe amplification, MLPA)、产前液相芯片技术 (BACs-on-Beads, BoBs) 等技术。这些分子遗传学诊断技术无需细胞培养, 分析周期短, 可以快速检出胎儿常见的染色体非整倍体异常, 显示出高通量、快速、易于大规模开展的优势, 对于解决当前以细胞遗传学核型分析为主流技术的产前诊断技术服务能力不足、诊断周期长等问题具有重要的现实意义。FISH 技术是利用荧光标记的特异性寡核苷酸片段作为探针, 与染色体、细胞或组织中的核酸按照碱基互补配对原则进行杂交, 通过荧光系统检测, 对待测 DNA 进行定性或相对定位分析。相对于传统的核型分析技术, FISH 技术具有快速及特异性高的优点。更由于其直观性, 成为众多遗传学诊断技术的有效验证方法, 具有广阔的应用前景。

FISH 技术的临床应用已有 20 多年的历史。1993 年, 美国医学遗传学学会 (American College of Medical Genetics, ACMG) 发布了 FISH 技术应用于产前诊断的技术说明<sup>[1]</sup>, 指出在充分知情同意的前提下, FISH 技术与传统的核型分析技术结合可用于胎儿常见染色体 (13、18、21、X、Y) 非整倍体异常的产前检测; 还可用于出生缺陷及智力低下的检测 (包括染色体微缺失及微重复综合征、标记染色体或衍生染色体) 等方面。2000 年, ACMG 基于多中心的研究数据发布了 FISH 技术临床应用的技术标

准<sup>[2]</sup>, 认为 FISH 技术是 1 种准确性很高的检测技术, 可标准化并易于质量控制管理; FISH 产前检测结果异常可出具报告, 但临床决策时应该考虑染色体核型分析进一步验证以及后续临床信息的支持。2010 年, ACMG 修订了临床细胞遗传学技术标准及指南<sup>[3]</sup>, 对 FISH 技术制定了详细的技术路线、分析标准及质量控制要求。近年来, 其他一些国家和地区也发布了相关的技术规范或指南<sup>[4-7]</sup>。

我国临床开展 FISH 技术也有多年的历史<sup>[8]</sup>。其应用大致有以下几类情况: (1) 对胎儿常见染色体非整倍体的快速产前诊断; (2) 对产前 (或出生后) 核型分析结果异常或其他分子细胞遗传学检测 (如染色体微阵列分析) 结果异常, 但无法确认异常染色体片段的来源或性质者, 进行目标染色体的验证; (3) 对自然流产、死胎等妊娠产物的遗传学分析。在产前诊断领域中, 主要应用于第 1 种情况, 目前, 已有经国家食品药品监督管理局批准注册的用于常见染色体非整倍体检测的商品化探针试剂盒。

FISH 技术作为 1 种快速产前诊断技术, 其临床应用已较为广泛, 我国的产前诊断专家组在多次讨论中也提出: 可将 FISH 技术用于唐氏综合征血清学产前筛查高风险、产前核型分析细胞培养失败及孕周大的孕妇, 作为核型分析技术的有效补充<sup>[9-10]</sup>。但在我国至今缺乏 FISH 技术用于产前诊断的相应技术规范。如何统一各级医务人员的认识, 正确定位 FISH 技术适宜的临床应用指征, 确定其在临床使用中的技术路线、产前咨询、规范应用等, 均是亟须解决的问题。在这种形势下, 由国家卫生和计划生育委员会召集、北京协和医院产前诊断中心主办的“全国产前筛查与诊断技术管理规范编制研讨会”于 2015 年 11 月 14 日在成都召开, 会议就 FISH 等快速产前诊断技术的临床应用进展及其在国内应用存在的具体问题进行了深入而广泛的探讨, 并形成了 FISH 技术在产前诊断中应用的专家共识。

DOI: 10.3760/ema.j.issn.0529-567x.2016.04.001

通信作者: 王和, 四川大学华西第二医院产前诊断中心, Email: wanghe\_cd@126.com

## 一、FISH 技术的临床应用指征及标本类型

### 1. FISH 技术的临床应用指征:

(1) 唐氏综合征血清学产前筛查高风险孕妇, 有常见染色体非整倍体产前诊断要求, 无不良孕产史, 超声检查未发现异常者。

(2) 无创性产前基因检测 (noninvasive prenatal testing, NIPT) 高风险孕妇, 需要明确诊断者。

(3) FISH 作为快速产前诊断技术与细胞遗传学技术 (染色体核型分析) 联合应用, 可对所有具备侵入性细胞遗传学产前诊断指征的胎儿进行检测 (参照细胞遗传学产前诊断指征), 有助于尽早获得胎儿常见染色体数目的信息。

(4) 对于孕周过大、染色体核型分析细胞培养失败或其他原因不能行细胞遗传学产前诊断者, FISH 技术可作为补救诊断手段之一, 能提供常见染色体非整倍体异常的检测。

(5) FISH 技术与其他分子遗传学诊断技术联合应用, 在临床应用其他分子遗传学诊断技术时, 可同时采用 FISH 获得 13、18、21、X、Y 等染色体数目的信息。包括: ① 在进行单基因遗传病分子诊断时, 同时进行 FISH 检测有助于排除常见染色体数目异常的情况; ② 在其他分子遗传学诊断技术 (如 QF-PCR、BoBs 等) 诊断结果不明确时, 可采用 FISH 技术进行验证。

2. FISH 检测的标本: 可采用绒毛、羊水、脐血等。标本采集的操作程序参照卫生行业标准 WS 322.2-2010 附录 B.3 执行, 采集时间可至妊娠 36 周。

## 二、FISH 技术的实验室工作

1. 实验室质量保障体系: 实验室应有内部质量控制体系, 要求贯穿于整个实验过程, 实验的关键环节 (如滴片、探针配制、探针滴加) 要求双人核对信息。

2. 试剂及仪器: 应采用经国家食品药品监督管理局批准注册的用于常见染色体非整倍体产前检测的商品化探针试剂盒, 按试剂盒说明书操作。应具有符合实验要求的杂交设备、荧光显微镜及电脑分析系统等。

3. 结果判读: 每份 FISH 结果由两位阅片人独立阅片; 选择各通道信号均清晰可辨、信号强度均一、信号边缘圆润、背景干净、单一无重叠的细胞进行计数。每组探针随机计数 50 个细胞; 如发现 1 个以上信号异常的细胞, 则扩大计数到 100 个细胞。单独判断每种指标, 正常细胞的比例  $\geq 90\%$ , 异常细胞的比例  $< 10\%$ , 提示该指标无异常; 某种指标异常

细胞的比例  $\geq 10\%$ , 提示该指标异常 (异常细胞的比例介于  $10\% \sim 60\%$  之间者提示为嵌合)。

4. FISH 结果异常的验证: 若 FISH 检测结果为染色体非整倍体异常, 建议采用其他技术 (如 QF-PCR、BoBs 或染色体核型分析技术) 进行验证。对绒毛标本异常的诊断应该慎重, 不能排除存在胎盘局限性嵌合情况时, 建议于中孕期行羊水细胞染色体核型分析以确诊。

5. 母体细胞污染: 实验室应有相应的技术路线及质量控制措施排除母体细胞污染 (maternal cell contamination, MCC)<sup>[11]</sup>。对怀疑 MCC 的标本, 建议在诊断实验的同时进行 MCC 鉴定 (如采用 QF-PCR)。若不能排除 MCC, 则在报告中予以说明, 并与临床咨询医师进行沟通, 向受检孕妇说明情况。

6. 报告发放: 推荐产前诊断实验室至少采用 1 种其他方法 (如 QF-PCR、BoBs) 进行验证后, 再发放 FISH 快速产前诊断报告。报告内容按照人类细胞遗传学命名国际体系 (ISCN, 2013)<sup>[12]</sup> 进行描述。每份 FISH 报告应至少由两个具有产前诊断资质的人员进行分析, 并由审核者在报告上签名方可发放。

7. FISH 实验室资料的完善与存档: 针对每例产前诊断的每个探针的检测结果, 至少有 2 个细胞图像的记录并保存。FISH 检测的荧光玻片保存时间有限, 其保存时间由实验室主任决定。在每次实验完成之前必须保存备份标本。

8. 产前诊断病例的追踪和随访: 对 FISH 产前诊断病例应进行随访, 了解并记录胎儿的发育情况以及妊娠结局。

## 三、产前咨询的相关问题

FISH 技术在产前诊断中的应用已较为广泛, 但也存在局限性<sup>[13-14]</sup>, 主要如下: (1) 通常只对胎儿常见染色体 (13、18、21、X、Y) 的非整倍体异常进行检测, 而未对其他染色体数目异常进行检测; (2) 在非特殊情况下, 未对染色体结构异常进行检测。基于 FISH 技术在产前诊断应用中存在的上述问题, 在进行胎儿 FISH 检测前和检测后, 应进行适当的产前咨询, 主要包括:

1. 咨询内容: 产前咨询应由有资质的专业医务人员承担。医师应了解孕妇的个人史、既往史、孕产史、遗传病家族史、FISH 产前诊断指征等, 帮助孕妇正确理解胎儿可能罹患染色体病的风险、染色体病的临床表现, FISH 检测染色体非整倍体异常

的利弊等,帮助孕妇及家属在充分知情后选择检测项目,并签署知情同意书;医师应在取样手术前开具必要的术前检查项目,排除孕妇侵入性取材手术的禁忌证。

2. 知情同意:FISH 技术用于胎儿染色体非整倍体异常检测前的咨询应详细解释其优点和局限性,并让受检者充分地知情同意,明确指出:(1) FISH 能够检出胎儿常见的 13、18、21、X、Y 染色体非整倍体异常,不能诊断其他染色体数目异常及染色体结构异常。(2) FISH 不能检出其他的遗传性疾病(如单基因遗传病、多基因遗传病),或其他原因(包括药物)导致的胎儿畸形或异常。(3) FISH 检测结果正常,胎儿仍有可能因其他因素导致出生缺陷或智力发育不全。(4) 由于现有医学技术水平的局限,FISH 检测不可能做到完全准确,例如某些嵌合体异常可能难以检出;可能会存在各种原因如细胞过少、MCC 等,致使不能得出结果或结果不准确等。

3. FISH 检测结果异常的咨询:告知受检孕妇及其家属 FISH 检测结果异常的临床意义、胎儿的预后及风险以及再次发生的可能及风险等。

#### 四、FISH 技术在产前诊断中的规范化应用

1. 产前诊断技术资质:根据 2002 年颁发的《产前诊断技术管理办法》的有关规定,开展产前诊断技术的医疗保健机构,是指经省级卫生行政部门许可开展产前诊断技术的医疗保健机构。故应用 FISH 技术进行产前诊断,需在具有产前诊断技术资质的医疗机构内、由具有产前诊断技术资质的医务人员进行。

2. 产前咨询资质:在进行产前 FISH 检测前和检测后,须对孕妇及其配偶进行相关的产前咨询,根据 2002 年颁发的《产前诊断技术管理办法》的有关规定,从事产前诊断技术的卫生专业技术人员,必须经过系统的产前诊断技术专业培训,通过省级卫生行政部门的考核并获得从事产前诊断技术的“母婴保健技术考核合格证书”。

3. 签署知情同意书:在进行产前 FISH 检测之前,须对准备受检的孕妇进行产前咨询并签署知情同意书。知情同意书上需详细说明 FISH 检测的优点和局限性。

4. FISH 技术的应用范围:主要用于快速产前诊断胎儿常见染色体(13、18、21、X、Y)的非整倍体异常。

5. FISH 检测报告的发放:在实验室发放 FISH

检测报告时,应在报告上明确说明 FISH 的检测内容、检测范围、局限性以及验证的方法。

#### 五、行政和法律层面的顾虑

产前诊断中存在较高的风险,FISH 技术作为 1 种快速分子细胞遗传学产前诊断技术,目前在临床实践中应用较为广泛。本共识的制定是基于目前 FISH 技术的国内应用情况及国外应用指南,并参考了相关的行政管理条例的规定。随着技术的进步,会进行修订,并为进一步制定相关指南打下基础。希望国家相关机构和部门能尽快解决 FISH 技术面临的一些行政许可问题(如出台相关的应用规范),为 FISH 技术的临床应用奠定合理合法的基础。

荧光原位杂交技术在产前诊断中的应用协作组成员:边旭明(中国医学科学院北京协和医院)、王和(四川大学华西第二医院)、郭玲仟(中南大学医学遗传学国家重点实验室)、胡娅莉(南京大学医学院附属鼓楼医院)、廖世秀(河南省人民医院)、刘俊涛(中国医学科学院北京协和医院)、廖灿(广州市妇女儿童医疗中心)、朱宝生(云南省第一人民医院)、吕时铭(浙江大学医学院附属妇产科医院)、王华(湖南省妇幼保健院)、许争峰(南京市妇幼保健院)、杨慧霞(北京大学第一医院)、徐两蒲(福建省妇幼保健院)、王治国(国家卫生计生委临床检验中心)、蔡艳(济南市妇幼保健院)、戚庆炜(中国医学科学院北京协和医院)、朱宇宁(浙江大学医学院附属妇产科医院)、尹爱华(广东省妇幼保健院)

本共识执笔专家:张雪梅(四川大学华西第二医院)、刘珊玲(四川大学华西第二医院)、王和(四川大学华西第二医院)

#### 参 考 文 献

- [1] American College of Medical Genetics. Prenatal interphase fluorescence in situ hybridization (FISH) policy statement[J]. Am J Hum Genet, 1993,53(2):526-527.
- [2] Technical and clinical assessment of fluorescence in situ hybridization: an ACMG/ASHG position statement. I. Technical considerations. Test and Technology Transfer Committee[J]. Genet Med, 2000,2(6):356-361.
- [3] American College of Medical Genetics and Genomics. Standards and guidelines for clinical genetics laboratories, Section E: clinical cytogenetics-2011[EB/OL]. [2016-01-25]. [https://www.acmg.net/StaticContent/SGs/Section\\_E\\_2011.pdf](https://www.acmg.net/StaticContent/SGs/Section_E_2011.pdf).
- [4] Schwartz S. Preparation of Amniocytes for Interphase Fluorescence In Situ Hybridization (FISH) [J]. Curr Protoc Hum Genet, 2015,85:8.9.1-8.9.16. DOI: 10.1002/0471142905.hg0809s85.
- [5] Sparkes R, Johnson JA, Langlois S, et al. New molecular techniques for the prenatal detection of chromosomal aneuploidy[J]. J Obstet Gynaecol Can, 2008,30(7):617-627.
- [6] Sheets KB, Crissman BG, Feist CD, et al. Practice guidelines for communicating a prenatal or postnatal diagnosis of Down syndrome: recommendations of the national society of genetic counselors[J]. J Genet Couns, 2011,20(5):432-441. DOI: 10.1007/s10897-011-9375-8.
- [7] Hong Kong College of Obstetricians and Gynaecologists.

- HKCOG Guidelines Number 4 (revised November 2009): Guidelines for amniocentesis and chorionic villus sampling (CVS) [EB/OL]. [2016-01-25]. [http://www.hkocg.org.hk/hkocg/Download/Guidelines\\_for\\_Amniocentesis\\_and\\_Chorionic\\_Villus\\_Sampling\\_2009.pdf](http://www.hkocg.org.hk/hkocg/Download/Guidelines_for_Amniocentesis_and_Chorionic_Villus_Sampling_2009.pdf).
- [8] 张雪梅, 刘珊玲, 陈新莲, 等. 荧光原位杂交在未培养羊水细胞产前诊断中的临床应用研究[J]. 实用妇产科杂志, 2009, 25(9):550-553. DOI: 10.3969/j.issn.1003-6946.2009.09.016.
- [9] 边旭明, 戚庆伟. 我国产前细胞遗传学诊断的现状与对策[J]. 中华妇产科杂志, 2011, 46(9):641-643. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0529-567x.2011.09.001.
- [10] 蒋宇林, 朱宇宇, 吕时铭, 等. 2012 年产前分子诊断新技术专家座谈会纪要[J]. 中华妇产科杂志, 2012, 47(11):804-807. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0529-567x.2012.11.002.
- [11] Nagan N, Faulkner NE, Curtis C, et al. Laboratory guidelines for detection, interpretation, and reporting of maternal cell contamination in prenatal analyses a report of the association for molecular pathology[J]. J Mol Diagn, 2011, 13(1):7-11. DOI: 10.1016/j.jmoldx.2010.11.013.
- [12] Shaffer LG, McGowan-Jordan J, Schmid M. ISCN 2013: an international system for human cytogenetic nomenclature (2013)[M]. Basel: Karger, 2013:105-120.
- [13] 戚庆伟, 周希亚, 蒋宇林, 等. 2 837 例妊娠中期孕妇羊水间期细胞荧光原位杂交检测胎儿染色体异常的残余风险[J]. 中华围产医学杂志, 2015, 18(1):5-10. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-9408.2015.01.003.
- [14] 戚庆伟, 郝娜, 周京, 等. 羊水间期细胞荧光原位杂交检测残余风险评估:6 125 例产前细胞遗传学诊断回顾性分析[J]. 生殖医学杂志, 2015, 24(6):429-435. DOI: 10.3969/j.issn.1004-3845.2015.06.001.

(收稿日期:2016-01-25)

(本文编辑:沈平虎)

## ·消息·

## 中华医学会杂志社指南与进展巡讲(产科)会议通知

为了更好地推广中华医学会妇产科学分会产科学组制定的相关指南,使之真正应用和服务于临床,由中华医学会妇产科学分会产科学组联合中华医学会杂志社、《中华妇产科杂志》编辑部主办的“中华医学会杂志社指南与进展巡讲(产科)”于2016年在全国6个城市陆续举办。

巡讲活动主席为中华医学会妇产科学分会产科学组组长、北京大学第一医院妇产科主任杨慧霞教授,授课专家均为起草或参与讨论相关诊疗指南的国内知名专家。

巡讲采用集中授课和答疑的形式,条件允许时可进行相关的演示;巡讲内容包括指南详细解读、相关疾病的最新诊疗进展、临床实用类知识和技术,以及论文写作。注册参

加会议的代表将授予国家级继续医学教育学分6分。

会议时间和地点:2016年4月22—24日 广州;2016年5月20—22日 武汉;2016年6月24—26日 杭州;2016年9月2—4日 曲阜;2016年10月14—16日 兰州;2016年11月4—6日 昆明。关于每场巡讲的具体举办日期和日程请关注微信“cmagynec”(“妇产科空间”),或登录中华妇产科杂志官方网站<http://www.zhfcckzz.org.cn>。通知及参会回执请咨询会议邮箱 yangtt@cma.org.cn, panyang@cma.org.cn。联系人:潘畅、沈平虎,联系电话:010-85158236, 85158227;传真:010-85158188。

我们真诚地期待您的热情参与!

## 妇科基层医师手术规范化培训会议通知

为了响应国家卫计委加强住院医师规范化培训、全面提升县级医院综合能力、提高医疗卫生工作质量和水平的要求,由中华医学会杂志社、《中华妇产科杂志》主办的“妇科基层医师手术规范化培训”将于2016年在全国6个城市举办。本次手术规范化培训活动由郎景和院士担任主席!

本次手术规范化培训针对广大妇科基层及青年医师,授课内容围绕妇科5种基本手术,即腹腔镜子宫全切除+附件切除术、腹腔镜子宫肌瘤剔除术、腹腔镜卵巢子宫内异位囊肿剔除术、腹腔镜子宫内膜癌分期手术、腹腔镜广泛性子宫颈切除术,邀请国内妇产科知名专家,现场结合相关指南对手术视频中的规范化操作步骤进行讲解,同时与学员

进行交流讨论。培训活动参会代表免注册费(交通、住宿自理)。

会议时间和地点:2016年3月20日 杭州;2016年4月23—24日 重庆;2016年5月28—29日 福州;2016年6月4—5日 广州;2016年7月(具体待定) 太原;2016年7月(具体待定) 沈阳;会议的其他详细信息您可登录“中华妇产科杂志”官方网站(网址:<http://www.zhfcckzz.org.cn/>),或者关注微信公众号“妇产科空间(cmagynec)”获得最新会议信息。秘书处:100710 北京市东城区东四西大街42号211房间。报名联系人:徐阳、潘畅。电话:010-85158297、85158227, 15901003370。