

Практические рекомендации по обеспечению качества и надежности цитогенетических исследований

Рекомендации Российского Общества медицинских генетиков для цитогенетических и молекулярно-цитогенетических исследований конститутивных хромосомных аномалий

Кузнецова Т.В.¹, Шилова Н.В.², Творогова М.Г.³, Харченко Т.В.⁴, Лебедев И.Н.⁵, Антоненко В.Г.^{2,6}

¹ — ФГБНУ «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта», 199034, г. Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д.3

² — ФГБНУ «Медико-генетический научный центр» 115522, г. Москва, ул. Москворечье д.1

³ — ФБУН Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора 111123, г. Москва, ул. Новогиреевская, дом 3а

⁴ — ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» МЗ РФ 1919015, г. Санкт-Петербург, ул. Кирочная, д.41

⁵ — НИИ медицинской генетики ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук» 634050, г. Томск, Набережная реки Ушайки, 10

⁶ — ГБУЗ Московской области «Московский областной научно-исследовательский институт им. М.Ф.Владимирского» 129110, г. Москва, ул.Щепкина, д.61/2

Практические рекомендации (ПР) по обеспечению качества и надежности пренатальных и постнатальных цитогенетических исследований подготовлены рабочей группой Российского общества медицинских генетиков. Их основой послужили Европейские стандарты для цитогенетических и молекулярно-цитогенетических исследований конститутивных и приобретенных хромосомных аномалий, подготовленные постоянной рабочей группой «Цитогенетики и общество» Европейской цитогенетической ассоциации (Е.С.А.). ПР посвящены цитогенетической диагностике конститутивных нарушений, направлены на стандартизацию лабораторно-генетической службы и призваны способствовать совершенствованию цитогенетической службы РФ. В ПР рассматривают вопросы контроля качества и надежности цитогенетических и молекулярно-цитогенетических методов, используемых в цитогенетических лабораториях в настоящее время.

Ключевые слова: стандартный хромосомный анализ, FISH, хромосомный мозаицизм, оценка качества и надежности исследований.

Для цитирования: Кузнецова Т.В., Шилова Н.В., Творогова М.Г., Харченко Т.В., Лебедев И.Н., Антоненко В.Г. Практические рекомендации по обеспечению качества и надежности цитогенетических исследований. *Медицинская генетика* 2019; 18(5): 3-27.

DOI: 10.25557/2073-7998.2019.05.3-27

Автор для корреспонденции: Шилова Надежда Владимировна, e-mail: nvsh05@mail.ru

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов.

Поступила: 23.04.2019

Practical recommendations to ensure quality and safety of cytogenetic research

Recommendations of Russian Society of Medical Genetics for constitutional (molecular) cytogenetic investigations

Kuznetsova T.V.¹, Shilova N.V.², Tvorogova M.G.³, Kharchenko T.V.⁴, Lebedev I.N.⁵, Antonenko V.G.^{2,6}

¹ — The Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology named after D.O.Ott, Mendeleevskaya line, 3, 199034, St. Petersburg, Russia

² — Research Centre for Medical Genetics Moskvorechie str., 1, Moscow, 115522, Russia,

³ — Central Research Institute of Epidemiology of The Federal Service on Customers' Rights Protection and Human Well-being Surveillance, Novogireevskaya str., 3a, Moscow, 111123, Russia

⁴ — North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov Kirochnaya ul. 41, Saint-Petersburg, 191015, Russia

⁵ — Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center Russian Academy of Sciences Naberejnaya Ushaiki st., 10, Tomsk, 634050, Russia

⁶ — Moscow Regional Research and Clinical Institute («MONIKI») Schepkina str., 61/2, Moscow, 129110, Russia

The Working group of Russian Society of Medical Geneticists prepared these Recommendations based on General Guidelines and Quality Assurance for Cytogenetics: a common European framework for quality assessment for constitutional, acquired and molecular

cytogenetic investigations (European Cytogeneticists Association (E.C.A.) Permanent Working Group for Cytogenetics and Society). This document is devoted to prenatal and postnatal (molecular) cytogenetic diagnosis of the constitutional chromosomal abnormalities, is aimed to define quality framework and to improve the activity of cytogenetic laboratories in Russian Federation. The Recommendations include aspects of quality control and safety for most of the methods currently employed by cytogenetic laboratories.

Key words: conventional cytogenetic investigation, FISH, chromosomal mosaicism, quality and safety assurance.

For citation: Kuznetsova T.V., Shilova N.V., Tvorogova M.G., Kharchenko T.V., Lebedev I.N., Antonenko V.G. Practical recommendations to ensure quality and safety of cytogenetic research/Recommendations of Russian Society of Medical Genetics for constitutional (molecular) cytogenetic investigations. *Meditsinskaya genetika [Medical genetics]* 2019; 18(5): 3-27 (In Rus)

DOI: 10.25557/2073-7998.2019.05.3-27

Corresponding author: Shilova Nadezhda, **e-mail:** nvsh05@mail.ru

Funding. The research had no funding

Conflict of interest. Authors declare no conflict of interest.

Accepted: 23.04.2019

1. ВВЕДЕНИЕ

1.1 ОСНОВНЫЕ ПОЛОЖЕНИЯ

Практические рекомендации по обеспечению качества и надежности цитогенетических исследований (ПР) подготовлены рабочей группой Российского общества медицинских генетиков. Их основой послужили Европейские стандарты для цитогенетических и молекулярно-цитогенетических исследований конститутивных и приобретенных хромосомных аномалий, подготовленные постоянной рабочей группой «Цитогенетики и общество» Европейской цитогенетической ассоциации (Е.С.А.) [1,2]. ПР посвящены цитогенетической диагностике конститутивных нарушений, направлены на стандартизацию лабораторно-генетической службы и призваны способствовать совершенствованию цитогенетической службы РФ.

В ПР рассматриваются вопросы контроля качества и надежности цитогенетических и молекулярно-цитогенетических методов, используемых в цитогенетических лабораториях в настоящее время.

Все приведенные в ПР критерии (показатели) следует рассматривать как минимально допустимые для обеспечения приемлемого уровня исследований конститутивных хромосомных аномалий.

В настоящее время для анализа хромосомных аномалий применяют разные методы, обладающие различными уровнями разрешения: цитогенетические, молекулярно-цитогенетические (флуоресцентная *in situ* гибридизация — FISH) и молекулярно-генетические. Однако цитогенетические методы, которые используют для постнатального и пренатального кариотипирования по стандартным показаниям, не эффективны для выявления микроструктурных перестроек (делеций/дупликаций), а FISH или молекулярно-генетические методы, эффективные для выявления хромосомного дисбаланса, не пригодны для описания кариоти-

па. Во многих случаях требуется сочетание разных методов и технологий. Выбор первичного метода и необходимость дополнительных (уточняющих) мероприятий зависят от причины направления (показания) на исследование и возможностей лаборатории.

1.2 ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ С ВРАЧАМИ, НАПРАВЛЯВШИМИ ПАЦИЕНТА НА ОБСЛЕДОВАНИЕ

Геном человека является основой персональной и семейной идентичности. В большей степени, чем другие медицинские анализы, результаты генетических исследований, в том числе и цитогенетических, могут оказывать воздействие на психологию пациента, его социальное и репродуктивное поведение. Поэтому важной составляющей при конститутивном цитогенетическом исследовании является взаимодействие цитогенетика с врачом-генетиком или другим специалистом, направившим пациента на обследование. **Недопустимо проводить цитогенетическое исследование без информации о причине/показании для направления пациента, предполагаемом диагнозе и клинических проявлениях.**

Специалисты-цитогенетики должны иметь возможность постоянного сотрудничества с врачами-генетиками и другими специалистами, направляющими пациентов на исследование, в течение всего времени проведения анализа. Руководители клинического и лабораторного отделений должны иметь достаточную междисциплинарную подготовку, чтобы адекватно оценивать знания специалистов в смежных дисциплинах. Аналогичные контакты с врачами разных специальностей (генетиком, акушером-гинекологом, специалистом по ультразвуковой диагностике) требуются в пренатальной диагностике хромосомных болезней, особенно при получении неоднозначного результата анализа или результата, не соответствующего ожида-

ниям по клиническому показанию, а также при необходимости проведения дополнительных (уточняющих) диагностических мероприятий.

Все генетические исследования необходимо выполнять при наличии информированного добровольного согласия пациента (или его законного представителя).

2. ПЕРСОНАЛ

Описание персонала, приведенное ниже, отражает основные требования, предъявляемые к специалистам цитогенетической лаборатории.

2.1 ЗАВЕДУЮЩИЙ (РУКОВОДИТЕЛЬ) СТРУКТУРНОГО ПОДРАЗДЕЛЕНИЯ (ОТДЕЛА, ОТДЕЛЕНИЯ, ЛАБОРАТОРИИ, КАБИНЕТА И ДР.) МЕДИЦИНСКОЙ ОРГАНИЗАЦИИ

Заведующим или руководителем может быть специалист, образование и подготовка которого соответствуют квалификационным требованиям для этой должности, установленным Приказом МЗ РФ №707н, 2015 г.

2.2. СПЕЦИАЛИСТ, ПРОВОДЯЩИЙ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ И/ИЛИ МОЛЕКУЛЯРНО-ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Цитогенетические и/или молекулярно-цитогенетические исследования конститутивных нарушений должен осуществлять врач, имеющий сертификат специалиста по специальности «Лабораторная генетика», в соответствии с требованиями, установленными Приказом МЗ РФ №707н, 2015 г., или специалист с высшим не медицинским образованием, прошедший повышение квалификации по программе «Лабораторная генетика» в объеме не менее 480 часов.

2.3. СРЕДНИЙ МЕДИЦИНСКИЙ ПЕРСОНАЛ

В качестве среднего медицинского персонала могут работать специалисты со средним медицинским образованием и соответствующей квалификацией (медицинский технолог, медицинский лабораторный техник, фельдшер-лаборант, лаборант), имеющие сертификат специалиста и прошедшие периодическое повышение квалификации в установленном порядке. В их обязанности входит: прием и регистрация поступающих в лабораторию биологических образцов и сопроводительных документов, подготовка помещений, ламинарных боксов, расходных материалов, утилизация использованных расходных материалов и остатков биологических образцов, контроль за работой оборудования. В обязанности среднего медицинского персонала может также входить постановка и фиксация кле-

точных культур, окраска и оценка качества приготовленных цитогенетических препаратов. Рекомендуются, чтобы один лаборант обеспечивал работу одного цитогенетика.

2.4 Обучающийся персонал

Вновь принятые на работу сотрудники, не имеющие опыта работы по методикам, используемым в лаборатории, должны работать под руководством опытного специалиста все время, пока необходимый уровень компетентности не будет достигнут.

2.5 ТЕХНИЧЕСКИЙ ПЕРСОНАЛ

Технический персонал может следить за чистотой помещения, заниматься подготовкой лабораторной посуды и утилизацией, если эта работа не входит в обязанности среднего медицинского персонала.

2.6 НАУЧНОЕ СОТРУДНИЧЕСТВО

Лаборатория должна стремиться к участию в научных исследованиях и к научному сотрудничеству с научными группами и исследовательскими лабораториями медицинского и биологического профиля.

3. РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ОБЪЕМУ РАБОТЫ

Среднегодовая нагрузка на сотрудника, проводящего цитогенетические или молекулярно-цитогенетические исследования, может соответствовать, согласно Приказу Минздрава РФ № 316 от 30.12.93 г., одному из приведенных ниже пунктов (на одну ставку):

- 250 образцов лимфоцитов периферической крови;
- 180 образцов для пренатальной диагностики;
- 400—500 метафазных/интерфазных FISH-тестов;
- 150—220 специальных FISH-тестов (например, скрининг на субтеломерные районы хромосом с использованием соответствующих ДНК-зондов).

Темпы работы персонала и число производимых им процедур могут существенно различаться при выполнении цитогенетических анализов, что зависит как от индивидуальных особенностей специалистов, так и от их загруженности другой работой. Объем работы может меняться в зависимости от степени автоматизации, организации работы в лаборатории, сложности проводимых исследований. Штат должен быть достаточным, чтобы не возникало задержек в обработке образцов, в том числе во время отсутствия или отпуска сотрудников. Достаточное время должно быть предусмотрено для развития и совершенствования профессионального образования персонала.

Для поддержания уровня лаборатории после внедрения нового метода желательно использовать его для

анализа не менее 100 образцов (пренатальных или постнатальных) ежегодно, в противном случае рекомендуется направлять образцы в другую лабораторию.

Желательно, чтобы штат лаборатории помимо заведующего включал не менее двух специалистов-цитогенетиков — для адекватной проверки результатов, бесперебойной работы во время болезни или отпуска специалистов, а также для взаимопомощи сотрудников при больших объемах работы. Лабораториям с меньшим штатом или находящимся в процессе организации рекомендуется взаимодействовать с лабораториями, имеющими достаточный штат, опыт и объем работы.

4. ЛАБОРАТОРНЫЕ ПРОЦЕДУРЫ

4.1. ОБЩИЕ ПОЛОЖЕНИЯ

Рабочее помещение должно быть пригодным для лабораторных исследований и иметь высокий уровень безопасности. Риск получения травмы на рабочем месте для сотрудников и для посетителей должен быть сведен к минимуму в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3.2630-10. Недопустимо снижение качества культивирования или выполнения анализа из-за недостатка места или отсутствия соответствующего оборудования.

4.1.1 Показания для исследования

Показания для направления пациента на цитогенетическое обследование изложены в Приложении А. В лаборатории должны быть разработаны четкие правила, в каких случаях необходимо проведение дополнительных исследований, не проводящихся в этой лаборатории, например, FISH, анализ хромосомной нестабильности или молекулярно-генетическое исследование.

В случае передачи материала для проведения дополнительного исследования в другую лабораторию, необходимо запросить и получить копию результата. Лаборатория, направляющая материал на дополнительное исследование, несет ответственность за интерпретацию своих результатов после получения дополнительной информации.

В лаборатории рекомендуется иметь регистр учреждений, в которые могут быть направлены образцы. Необходимо проводить регистрацию всех образцов, направляемых в другие лаборатории. Образцы следует отправлять в лаборатории, обладающие соответствующей компетенцией.

4.1.2 Информированное добровольное согласие

В соответствии с Федеральным Законом РФ №323-ФЗ информированное добровольное согласие необхо-

димо как для цитогенетических, так и для молекулярно-цитогенетических исследований. Пациент (или его законный представитель) должен быть осведомлен о возможностях и ограничениях использованного метода и клиническом значении полученного этим методом возможного результата (норма, хромосомная аномалия). Пациент (или его законный представитель) также должен быть информирован, что могут быть обнаружены другие хромосомные аномалии, не соответствующие ожидаемым (случайные находки), а также могут быть получены результаты, которые потребуют дополнительных исследований.

4.1.3 Стандартные операционные процедуры

Для всех методик и оборудования, использующихся в лаборатории, согласно Национальному стандарту РФ ГОСТ Р ИСО15189-2015 (НЦ ГОСТ Р ИСО 15189), должны быть разработаны и утверждены руководителем стандартные операционные процедуры (СОП). СОП должны быть написаны на понятном персоналу языке и быть доступны для персонала, их необходимо ежегодно пересматривать. Руководитель лаборатории отвечает за то, чтобы персонал был обучен и понимал СОП. Устаревшие версии СОП следует хранить в доступном формате не менее 3 лет.

СОП для новых методик должны быть утверждены до внедрения в практику.

Для диагностических целей возможно использование только серийно изготовленных зондов и расходных материалов, согласно Федеральному Закону № 532-ФЗ.

4.2 ОСНАЩЕНИЕ И ОБОРУДОВАНИЕ

Контроль работы оборудования должен проводиться ежегодно в соответствии с НЦ ГОСТ Р ИСО 15189. Для уменьшения риска, связанного с неисправностью техники, все необходимое оборудование должно быть дублировано (два инкубатора, две центрифуги и т. д.). Если по какой-то причине оборудование нельзя продублировать, в лаборатории необходимо иметь «экстренный план» выполнения работы в случае неисправности техники. Необходимо регулярно проводить техническое обслуживание оборудования с внесением соответствующих записей в журнал эксплуатации оборудования. Всё электрическое оборудование необходимо регулярно тестировать в отношении безопасности, соответствующие записи необходимо сохранять. Чтобы избежать простоя оборудования из-за неисправности, необходимо его регулярное обслуживание, для чего заключается договор обслуживания (например, для микроскопов и систем анализа изображений).

4.2.1 Ламинарные боксы

Все биологические образцы потенциально могут быть загрязнены патогенными микроорганизмами, например, вирусом гепатита В. Лаборатории должны быть оснащены ламинарными боксами 2 класса защиты.

4.2.2 Инкубаторы

Все инкубаторы и другое оборудование должны быть оснащены аварийной сигнализацией или системой автоматической защиты от сбоя температурного режима или изменений уровня CO₂ (при его использовании). При возможности рекомендуется централизованный мониторинг систем аварийной сигнализации.

4.2.3 Оборудование для FISH-исследований

Для проведения FISH-исследований необходимо выделить отдельные помещения с возможностью затемнения. Специальное оснащение должно включать оборудование для инкубации при разных температурных режимах, микроцентрифугу, флуоресцентный микроскоп с набором фильтров, камерой и системой анализа изображений. Необходимо использовать вытяжной шкаф, чтобы защитить персонал от ядовитых веществ, таких как формамид, метанол и т.д. Лаборатории, производящие собственные ДНК-зонды, должны проводить мероприятия для предотвращения контаминации образцов ДНК.

4.2.4. Компьютерные системы получения и анализа изображений

Для поддержания высокого качества работы всех систем, анализирующих изображения, необходимо регулярное обновление их программного обеспечения.

4.3. ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ АНАЛИЗЫ

4.3.1 Клинические показания для цитогенетического исследования.

В приложении А представлены общие рекомендации по клиническим показаниям для назначения цитогенетического исследования.

4.3.2 Культивирование клеток

Рекомендуются дублирование и независимая обработка культур. При культивировании пренатальных образцов рекомендуется постановка, по крайней мере 2-х, а лучше 3-х независимых культур, отдельный анализ которых может понадобиться при выявлении мозаицизма. (Эти вопросы более подробно рассмотрены в разделе 5 «Особенности хромосомного анализа».)

4.3.3 Образцы ненадлежащего качества

Если качество образца не соответствует требованиям лаборатории, лаборатория имеет право отказать в его приеме и запросить повторный образец. Если образец ненадлежащего качества все же принят, то лаборатория несет ответственность за получение результата методами, соответствующими причине направления на анализ.

4.3.4 Дифференциальное окрашивание хромосом

Кариотипирование следует проводить с применением методов дифференциального окрашивания хромосом. Наиболее широко используют G-окрашивание, так как с его помощью можно получить наибольший уровень разрешения (табл. 1). Если используют другие методы дифференциального окрашивания (например, R- или Q-бэндинг) лаборатория должна обеспечить соответствие уровня окраски 550 сегментам G-бэндинга. В абсолютном большинстве случаев необходим полный анализ всего набора дифференциально окрашенных хромосом. В редких случаях, например, при синдромах, связанных с повышенной ломкостью хромосом, достаточно использования метода сплошного окрашивания.

Международная система цитогеномной номенклатуры (ISCN 2016) [3] определяет пять уровней дифференциального окрашивания 300-, 400-, 550-, 700- и 850 бэндов на гаплоидный набор. В табл. 1 приведено руководство для определения минимального качества окрашивания, необходимого для проведения анализа в зависимости от показаний. Полностью анализ должен быть завершен при уверенности специалиста в том, что числовые и структурные аномалии исключены на уровне, соответствующем причине направления на исследование.

В табл. 2 представлены критерии идентификации числа сегментов (бэндов) при G-окрашивании хромосом.

В тех случаях, когда при анализе препаратов не удастся достичь минимально допустимого для соответствующего показания уровня разрешения дифференциальной окраски, и аномалии не выявлены, не всегда необходимо повторное исследование. После обсуждения с врачом, направившим пациента на исследование, можно выдать заключение, сделав в нем соответствующие комментарии.

4.3.5. Хромосомный анализ

В лаборатории должны быть разработаны протоколы с критериями хромосомного анализа при различных показаниях. Для анализа используют полные ме-

тафазные пластинки с хорошим разбросом хромосом. Неполные пластинки (с числом хромосом менее 44), также как пластинки с множественными наложениями, должны быть исключены из анализа.

Метафазный анализ включает сопоставление гомологичных хромосом (а также оценку блоков X- и Y-хромосом) — посегментный анализ («бэнд за бэндом»). Если один гомолог из пары вовлечен в наложение, эта пара гомологов должна быть независимо проанализирована в других пластинках, чтобы исключить структурные перестройки. Таким образом, для полно-

го анализа, как правило, должны быть подсчитаны и проанализированы дополнительные пластинки. В таблице 3 приведено число метафазных пластинок, которое должно быть проанализировано для каждого типа тканей. Для конститутивного анализа в большинстве случаев должно быть просмотрено 11 метафазных пластинок (с качеством окраски не ниже минимального для данной причины направления). Правила лаборатории могут предусматривать посегментный анализ и подсчет большего числа пластинок, чем минимальное, указанное в табл. 3, например, для

Таблица 1

Рекомендации по минимальному уровню разрешения дифференциальной окраски в зависимости от показаний для исследования

Показания для исследования (конститутивный анализ)	Требования к минимальному уровню разрешения дифференциальной окраски GTG (или другой эквивалентной окраски) в зависимости от показания для исследования (число бэндов на гаплоидный набор)
Подтверждение анеуплоидий на препаратах из клеточных культур (лимфоцитов крови, клеток амниотической жидкости), а также на препаратах, приготовленных прямым методом из нативных образцов и/или краткосрочных органных культур ворсин хориона/плаценты	<300 бэндов
Исключение крупных структурных хромосомных перестроек на препаратах из клеточных культур (лимфоцитов крови, клеток амниотической жидкости), а также на препаратах, приготовленных прямым методом из нативных образцов и/или краткосрочных органных культур ворсин хориона/плаценты	300 бэндов
Идентификация и исключение мелких структурных перестроек на препаратах из клеточных культур (лимфоцитов крови, клеток амниотической жидкости), а также на препаратах, приготовленных прямым методом из нативных образцов и/или краткосрочных органных культур ворсин хориона/плаценты	400 бэндов
Идентификация и исключение мелких структурных перестроек на препаратах из культуры лимфоцитов при обследовании пациентов с задержкой психомоторного развития, врожденными пороками и/или микроаномалиями развития, а также супружеских пар с привычным невынашиванием беременности	550 бэндов*
Подозрение на синдромы микроструктурных хромосомных перестроек (когда нет возможности использовать FISH-зонды)	700 бэндов

* При обнаружении нормального кариотипа в случае выраженной клинической картины (множественные врожденные пороки и/или аномалии развития, умственная отсталость) для уточнения диагноза желательно использование молекулярно-генетических и молекулярно-цитогенетических технологий.

Таблица 2

Система оценки качества G-окраски [4, 5]

Качество G-окраски	Идентификация сегментов
Отсутствует	Идентифицировать хромосомы нет возможности
Около 150 сегментов	Каждая хромосома может быть идентифицирована по сигнальным сегментам
Около 400 сегментов	Видны 2 четких темных блока на 8p и 9p и три темных сегмента в середине 5q (5q14, 5q21, 5q23)
Около 550 сегментов	Видны четыре четких темных сегмента на 18q и три на 11p, 7q33 и 7q35, может быть, виден 22q13.2
Около 850 сегментов	Проявляются сегменты 6q16, 6q24, 6q25.2 и 6q26. Отчетливо видны 11p14.1, 11p14.3 и 15q12. На 20p не менее двух темных сегментов.

исключения мозаицизма во всех случаях, а не только в тех, где его можно предполагать на основании информации, указанной в направлении.

4.3.6. Системы анализа изображений

Традиционное исследование хромосом при микроскопии желательно дополнять использованием анализирующих систем. При этом следует иметь в виду, что при анализе изображений метафазных пластинок с чрезмерным разбросом хромосом малые маркерные или сверхчисленные хромосомы могут оказаться не выявленными.

4.3.7 Контроль

При наличии в штате лаборатории не менее двух специалистов-цитогенетиков желательно переходить на коллегиальный способ работы. При этом каждый образец исследуют два специалиста. Один цитогенетик проводит хромосомный анализ в объеме, соответствующем направлению на исследование, второй цитогенетик («проверяющий») проводит посегментный сравнительный анализ гомологов по 3 метафазным пластинкам. Для проверки могут быть использованы те же самые метафазные пластинки, что и для первичного анализа. Рекомендуются независимая («слепая») проверка, когда проверяющий не знает результат пер-

вичного анализа. По окончании работы специалисты составляют совместное заключение о кариотипе, и подписывают его. При коллегиальном способе работы годовая нагрузка цитогенетика должна быть уменьшена на 25%. В случае, если в лаборатории работает только один специалист-цитогенетик, желательно предусмотреть возможность сотрудничества с другими лабораториями.

5. ОСОБЕННОСТИ ХРОМОСОМНОГО АНАЛИЗА

5.1 ПРЕНАТАЛЬНЫЕ ОБРАЗЦЫ

Лаборатории, проводящие пренатальные исследования, должны быть оборудованы, по крайней мере, двумя инкубаторами для раздельного культивирования образцов.

5.1.1 Культивирование клеток амниотической жидкости

Для снижения риска контаминации или потери культуры из-за неисправности инкубатора необходимо дублировать культуру, обрабатывать образцы отдельно и содержать в разных термостатах, при возможности подключенных к независимым источникам энергии. Необходимо проводить предварительное тестирование каждой партии культуральных сред и дру-

Таблица 3

Рекомендации по минимальному количеству метафазных пластинок/интерфазных ядер, необходимых для проведения цитогенетического/молекулярно-цитогенетического исследования

Анализ	Показания/вид исследования/результат	Число метафазных пластинок/интерфазных ядер для анализа	Общее число метафазных пластинок/интерфазных ядер для анализа
Постнатальный конститутивный	Стандартный	11 метафазных пластинок (а)	11 метафазных пластинок
Пост/пренатальный конститутивный	Исключение мозаицизма или аномалии, обнаруженной в одной клетке	11 метафазных пластинок	27 (50) метафазных пластинок
Пренатальный конститутивный	Стандартный	по 5 метафазных пластинок из двух независимых культур (b) или нескольких разных ворсин, если используют «прямые» и «полупрямые» препараты	11 метафазных пластинок (с)
Пост/пренатальный	FISH на метафазных пластинках	5 метафазных пластинок	—
Пост/пренатальный	FISH на интерфазных ядрах	100 интерфазных ядер (d)	—
Пренатальный скрининг	FISH на интерфазных ядрах	30 интерфазных ядер (е)	до 50 интерфазных ядер

Примечание: а — в том числе полностью проанализированных метафазных пластинок (посегментное сравнение гомологов на уровне 550 бэндов) не менее 3-х.

b — одна культура, если применяются другие методы детекции анеуплоидии (FISH или молекулярно-генетические)

с — может потребоваться подсчет дополнительных клеток, чтобы исключить мозаицизм или аномалию, обнаруженную в одной клетке.

d — для исключения мозаицизма или аномалии в одной клетке (см. таблицу 3 в Приложении Б).

е — для каждого зонда из набора для скрининга анеуплоидий.

Расширение анализа или увеличение числа проанализированных клеток обосновано, если есть клинические указания или подозрение на мозаицизм.

гих реагентов, чтобы избежать ингибирования роста клеток пренатальных образцов. Пренатальные культуры рекомендуют содержать в двух разных средах или в одной и той же культуральной среде, но из разных партий. То же самое относится и к использованию других реактивов.

При проведении пренатальной диагностики наличие контаминации материнскими клетками должно быть обязательно отмечено и записано в соответствии с лабораторными правилами. При анализе необходимо иметь в виду возможности контаминации культуры материнскими клетками, псевдомозаицизма, истинного мозаицизма и хромосомных aberrаций *in vitro* (как результата культивирования клеток). Для распознавания таких артефактов должна быть разработана специальная система контроля культивирования клеток и их анализа. Не следует проводить фиксацию или субкультивирование всех клеточных культур из одного образца одновременно. По возможности рекомендуется поддерживать резервные культуры до выдачи окончательного заключения. Также желательно иметь оборудование для криоконсервации жизнеспособных клеток, например в случаях аномалий развития у плода, до момента завершения беременности (искусственного прерывания беременности, преждевременных или срочных родов). Лабораториям следует отдавать себе отчет, что при проведении исследований могут быть получены как ложноположительные, так и ложноотрицательные результаты.

5.1.2 Культивирование клеток ворсин хориона (ВХ)

Для цитогенетического анализа препаратов из ВХ доступны либо спонтанно делящиеся эпителиальные клетки цитотрофобласта, либо стимулированные к делению *in vitro* фибробласты стромы ворсин. Анализ хромосом на препаратах, приготовленных прямым методом из нативных образцов или краткосрочных органных культур хориона/плаценты (цитотрофобласта), рекомендуется дополнять анализом препаратов из долгосрочных клеточных культур (экстраэмбриональной мезодермы) [6,7,8]. Сочетание этих двух способов анализа позволяет минимизировать диагностические ошибки, обусловленные неравномерным распределением анеуплоидных клеток в тканях хориона/плаценты.

Перед приготовлением препаратов и культивированием проводится обязательная визуальная оценка объема и качества образца с использованием стереомикроскопа или бинокулярной лупы, а также удаление примеси крови и децидуальной ткани (при их наличии). Если объем образца недостаточен для приготовления препаратов двумя способами, возможен

выбор одного из них (предпочтительнее — культура фибробластов). Рекомендации по культивированию, фиксации и анализу фибробластов стромы ВХ аналогичны рекомендациям по культурам клеток амниотической жидкости. При недостаточном для метафазного анализа митотическом индексе и/или при мозаицизме анализ на «прямых» препаратах может быть дополнен методом FISH с соответствующими ДНК-зондами.

При интерпретации результатов анализа клеток ВХ важно помнить, что для определения типа межтканевого мозаицизма необходимо исследовать не только клетки экстраэмбриональных тканей (цитотрофобласта и стромы ворсин), но и клетки плода. Следует помнить, что общая частота плацентарного мозаицизма с тканеспецифичной или равномерной локализацией анеуплоидных клеток в экстраэмбриональных тканях при нормальном кариотипе плода (типы 1, 2, 3) не превышает 2%; мозаицизма с нормальным кариотипом в плаценте и анеуплоидным в клетках плода (типы 4, 5, 6) — 0,5%; генерализованного мозаицизма (с наличием анеуплоидных клеток и в плаценте, и в тканях плода) — 0,1%.

5.1.3 Культивирование клеток крови плода

Перед культивированием следует убедиться, что образцы пуповинной крови не содержат примесей материнской крови и имеют только плодное происхождение. Для этого можно применять различные лабораторные методы: автоматический счетчик частиц, определение щелочной фосфатазы, метод Клейхауэр-Бетке или тест Апта (цветная реакция на гемоглобин в растворе гидроокиси натрия или калия). Если одновременно проводятся амниоцентез и кордоцентез, то нужно культивировать и анализировать оба образца (и клетки амниотической жидкости, и пуповинную кровь), кроме случаев, когда появляются веские причины этого не делать (например, если в образце пуповинной крови будет выявлена несбалансированная хромосомная аномалия).

5.1.4 Биоматериал спонтанных выкидышей/образцы после прерывания беременности

Верификация (подтверждение) кариотипа плода в случае выявления хромосомной аномалии пренатально и последующего прерывания беременности желательна и может являться частью внутрилабораторного контроля качества. Для выявления хромосомной патологии в хорионе/плаценте, лимфоцитах пуповинной крови плода или клетках амниотической жидкости могут быть использованы цитогенетический, FISH-анализ или молекулярно-генетические технологии.

5.2. ХРОМОСОМНЫЙ МОЗАИЦИЗМ

5.2.1. Мозаицизм в постнатальных исследованиях

В случаях, когда можно ожидать наличие мозаицизма (например, при аномалиях половых хромосом или синдромах, обусловленных ломкостью хромосом), число просмотренных и изученных метафаз должно быть достаточным, чтобы исключить мозаицизм и клональность. Расширенный анализ, включающий исследование не менее 30 метафазных пластинок, рекомендуется при подозрении на мозаицизм по клиническим показаниям (таблицы границ доверительных интервалов для исключения мозаицизма в культивируемых лимфоцитах и комментарии к ним см. в работе E. Hook, 1997 [9]). В случаях выявления мозаицизма по половым хромосомам прежде всего следует иметь в виду связанную с возрастом потерю одной из X-хромосом у женщин и Y-хромосомы у мужчин.

При обследовании женщин с привычным невынашиванием беременности без подозрений на синдром Шерешевского—Тернера наличием клеток с моносомией X-хромосомы на уровне не более 10% при анализе 30—60 метафазных пластинок можно пренебречь [10—13]. Но следует помнить о существовании не только межклеточного, но и межтканевого мозаицизма (то есть о различиях между тканями по наличию и доле клеток с разным кариотипом). При этом соотношение нормального и аномального клонов в различных тканях может быть различным.

Кроме того, при культивировании клеток возможно образование клонов с аномальным кариотипом. Это явление носит название «псевдомозаицизма». Например, у нормальных индивидуумов могут встречаться единичные метафазные пластинки с транслокацией между хромосомами 7 и 14, что вызвано условиями культивирования лимфоцитов.

FISH является наиболее подходящим методом для подтверждения мозаицизма при наличии соответствующих зондов. В некоторых случаях необходимо исследовать препараты из клеток другой ткани, например, при трисомии по хромосоме 8. При подозрении на синдром Паллистера—Киллиана (Pallister—Killian, OMIM 601803) исследование нужно проводить на препаратах из клеток некультивированной крови и другой ткани.

Никакие анализы не могут однозначно исключить мозаицизм. В случае выявления низкого уровня мозаицизма с неясной клинической значимостью до выдачи заключения результат следует обсудить с врачом, направившим на исследование.

5.2.2. Мозаицизм в пренатальных исследованиях

Для каждого образца рекомендуют использовать две или три культуры. Анализ второй или третьей культуры проводят при подозрении на мозаицизм или псевдомозаицизм, например, при трисомии 2, когда аномалия несовместима с длительным развитием плода [14, 15]. Как правило, если одна и та же аномалия присутствует в двух независимых культурах, мозаицизм подтверждается.

Для препаратов *in situ* допускают проведение анализа клеток одной культуры, если они происходят из разных колоний. Однако чтобы исключить псевдомозаицизм, рекомендуют использование двух и более независимых культур. При достаточном количестве колоний подсчитывают и анализируют не менее трех клеток из каждой колонии (кроме случаев, когда исключают аномалию единственной клетки). Если колоний недостаточно, в заключении должно быть сделано специальное указание. Следует иметь в виду, что при стандартном анализе могут остаться не выявленными некоторые случаи истинного хромосомного мозаицизма и мелкие структурные перестройки хромосом.

В СОП рекомендуют описать процедуры выявления различных типов мозаицизма (см. приложение Б).

При культивировании амниотических клеток исследование мозаицизма должно быть проведено на основании анализа независимых культур или одной культуры, но в разных клонах. Отсутствие аномальных клеточных линий может служить подтверждением нормальной беременности, но при выявлении аномалии в зависимости от вовлеченных хромосом и природы нарушений могут потребоваться дополнительные исследования [11, 14, 15]. Для того, чтобы различить истинный мозаицизм и абберации *in vitro*, рекомендуется применять метод независимых колоний. В отдельных случаях требуются более тщательная оценка и обсуждение результата, а число подсчитанных и проанализированных клеток может быть увеличено [11].

При исследовании образцов ВХ уровень мозаицизма может зависеть от распределения аномалий в клетках разного типа: на «прямых и «полупрямых» препаратах (в цитотрофобласте) и в долгосрочных клеточных культурах (в экстраэмбриональной мезодерме) и от вовлеченных хромосом [6—8]. В лаборатории следует иметь протокол, в котором описаны действия в случае, если цитогенетические находки не соответствуют причине направления на исследование (например, нормальный кариотип при аномалиях развития, выявленных при ультразвуковом исследовании плода).

Следует принимать во внимание и возможность однородительской дисомии (ОРД). Заключение в таких случаях рекомендуют выдавать после дополнительных исследований.

Исключение ОРД обязательно при межклеточном мозаицизме (трисомия/дисомия), а также при подтвержденном ограниченном плацентарном мозаицизме с вовлечением хромосом 7, 11, 14 и 15, при гомологичных и негомологичных робертсоновских транслокациях, в которые вовлечены хромосомы 14 и 15, маркерных хромосомах, являющихся производными хромосом 7, 11, 14 или 15 [8, 16, 17].

5.2.3 Контаминация материнскими клетками

Если контаминация материнскими клетками превышает уровень III или составляет более 10% клеток в одной культуре, необходимо до выдачи заключения провести дополнительные исследования с использованием любого молекулярного метода, который позволяет подтвердить или исключить химеризм путем сравнительного анализа с материнскими аллелями.

5.3 СИНДРОМЫ ХРОМОСОМНОЙ НЕСТАБИЛЬНОСТИ

В связи с редкой частотой синдромов, сопровождающихся хромосомной нестабильностью, и проблемами, возникающими при интерпретации результатов, лаборатории, не имеющие специалистов с опытом работы в этой области, должны отправлять образцы на экспертизу в специализированные учреждения. Классическими синдромами с повышенной ломкостью хромосом являются: атаксия-телеангиэктазия (ataxia telangiectasia, синдром Луи-Бар; OMIM 208900), синдром Блума (Bloom syndrome; OMIM 210900), анемия Фанкони (Fanconi's Anemia)(OMIM 603467), синдром Ниймеген (Nijmegen syndrome; OMIM 251260), синдром Робертса (Roberts syndrome; OMIM 268300), синдром Вернера (Werner syndrome; OMIM 277700), ICF-синдром (OMIM 242860, OMIM 614069) и мозаичная смешанная анеусомия (MVA)(OMIM 257300). Другие синдромы, сопровождающиеся дефектами репликации и/или репарации ДНК, например, синдром Коккейна (Cockayne syndrome; OMIM 216400) или пигментная ксеродерма (Xeroderma pigmentosum; OMIM 133510, 278700, 278730, 278780), не могут быть диагностированы цитогенетическими методами.

В исследованиях конститутивного кариотипа недопустимо проводить оценку спонтанного уровня хромосомных aberrаций, так как критерии использования этого показателя в клинике не определены. Комплексную оценку последствий радиационного или химического пораже-

ния необходимо проводить по соответствующим протоколам.

При исследовании заболеваний, связанных с ломкостью хромосом, кластогенные исследования (т.е. исследования с применением кластогенных агентов, вызывающих разрывы хромосом, применяемые для определения уровня индуцированных хромосомных aberrаций) необходимо проводить в сравнении с негативным и, желательно, с позитивным контролем. Все контрольные и тестируемые образцы следует собирать, обрабатывать, культивировать и исследовать параллельно. Желательно, чтобы контрольный образец соответствовал тестируемому (по полу, возрасту и т.п.). Анализ следует проводить «вслепую» на зашифрованных препаратах. Число проанализированных метафазных пластинок должно быть достаточно большим (50–100), чтобы выявленное различие уровня клеток с хромосомными aberrациями у пациента и в контрольных образцах было статистически значимым.

5.3.1 Синдром Блума

Так как некоторые больные с этим заболеванием, наряду с клетками с повышенной частотой сестринских хроматидных обменов (СХО), имеют популяцию клеток с нормальной частотой таких обменов, рекомендуют исследовать не менее 20 метафазных пластинок. Следует учитывать частоту СХО в контрольных образцах при соблюдении одинаковых методических условий.

5.3.2 Анемия Фанкони

Для исключения соматической мутации, типичной для анемии Фанкони, рекомендуют проанализировать 50, а лучше — 100 метафазных пластинок.

Эффективность используемого кластогена следует оценить либо в сравнении с необработанным контролем, либо по уровню СХО в обработанных и не обработанных образцах. Следует подсчитать среднее количество разрывов в aberrантных клетках и среднее количество разрывов на нормальную клетку.

5.3.3 Атаксия-телеангиэктазия и синдром Ниймеген

Частоту хромосомных aberrаций в культуре после ионизирующего облучения следует определять, анализируя 50–100 метафазных пластинок. Так как у некоторых пациентов с атаксией-телеангиэктазией клетки имеют промежуточную реакцию на облучение, следует проводить анализ 50 дифференциально окрашенных метафазных пластинок с целью выявления перестроек, вовлекающих локусы рецептора Т-клеточного антигена на хромосомах 7 и 14.

5.4 ДРУГИЕ РЕДКИЕ СИНДРОМЫ, ВЫЯВЛЯЕМЫЕ ПРИ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКОМ АНАЛИЗЕ

Несмотря на успехи в понимании молекулярных основ некоторых заболеваний, цитогенетическое исследование часто является первым шагом в постановке диагноза. Для уверенности в достоверности выявленных хромосомных нарушений должно быть исследовано достаточное число метафазных пластинок (не менее 50).

5.4.1. Синдром Робертса

Для выявления центромерного пуффинга (разрыхления центромер) или хромосом с преждевременным расхождением хроматид в центромерных районах рекомендуют проанализировать 50 С-окрашенных метафазных пластинок. Для подтверждения анеуплоидии следует проанализировать не менее 50 дифференциально окрашенных метафазных пластинок.

5.4.2 ICF синдром

Для идентификации аномалий гетерохроматиновых районов на хромосомах 1, 9 и 16 и выявления разветвленных конфигураций рекомендуют проанализировать 50 дифференциально окрашенных метафазных пластинок.

6. ФЛУОРЕСЦЕНТНАЯ *IN SITU* ГИБРИДИЗАЦИЯ (FISH)

6.1. ИССЛЕДОВАНИЯ

Интерфазная и метафазная FISH с использованием как одного, так и нескольких зондов может дать надежные результаты в самых разных клинических ситуациях.

Этот метод используют для уточнения характера перестроек, выявленных при стандартном цитогенетическом исследовании, в случае, если это имеет диагностическое или прогностическое значение, а также при обнаружении явных хромосомных аномалий при нетипичной клинической картине.

Для подтверждения очевидных хромосомных аномалий, выявленных при цитогенетическом исследовании, использовать FISH не рекомендуется.

Следует иметь в виду, что интенсивность сигнала каждого из ДНК-зондов может варьировать как между препаратами (в зависимости от срока хранения препарата, его качества и разброса хромосом), так и на одном препарате. При подозрении на делецию или перестройку лучшим показателем эффективности гибридизации является сигнал на нормальной хромосоме, а внутренним контролем результативности FISH

служит сигнал контрольного зонда. При недостаточной эффективности гибридизации тест рекомендуют повторить.

Персонал должен быть обучен работе со всеми типами образцов, используемых для анализа. В лабораториях должны быть стандарты для классификации наблюдений и интерпретации результатов. Должно быть проанализировано достаточное число клеток в зависимости от типа используемого зонда для исключения или подтверждения мозаицизма (см. табл. 4).

В большинстве случаев FISH-анализ сопровождается анализом кариотипа с использованием стандартных цитогенетических методов, что позволяет визуализировать хромосомную перестройку и уточнить точки разрывов.

6.1.1 Гибридизация с цельнохромосомными зондами на метафазных хромосомах

Для анализа используют серийно изготовленные зонды, так как они являются более надежными. Интерпретировать локализацию точек разрывов при использовании FISH-метода следует очень осторожно. Результаты такого исследования сопоставляют с результатами, полученными при анализе с использованием дифференциального окрашивания.

Нужно помнить, что разрешающая способность разных цельнохромосомных зондов может варьировать. Небольшие перестройки могут быть пропущены при анализе с использованием цельнохромосомных зондов из-за неравномерного связывания зонда с последовательностями вдоль хромосомы-мишени.

6.1.2 Диагностика с использованием локус-специфичных зондов

В диагностических лабораториях обычно используют доступные серийно изготовленные зонды или наборы реагентов (kits). Число проанализированных клеток должно соответствовать чувствительности и специфичности зонда на препарате, но не должно быть менее 5. При подозрении на микродупликацию результаты желательно подтвердить альтернативными (молекулярными) методами.

6.1.3 Интерфазная FISH

Особое внимание следует уделять интерпретации результатов. Должно быть проанализировано достаточно большое число клеток (50-100), так как сигнал в интерфазных клетках может быть вариabельным.

При проведении пренатальной диагностики в случае контаминации образца материнскими клетками, должны быть сделаны соответствующие комментарии. Следует иметь в виду, что метод интерфазного FISH-

анализа позволяет выявлять лишь определенные хромосомные аномалии, что недостаточно для заключения о кариотипе. Более того, если в дополнение к FISH-анализу не было проведено исследование дифференциально окрашенных хромосом, исследователь может сделать ошибочное заключение.

Интерфазная FISH может быть дополнительным тестом для оценки уровня мозаицизма или химеризма в клеточных линиях с аномалиями, предварительно установленными при стандартном хромосомном анализе.

6.1.4 Проверка результата

Как и для стандартного хромосомного анализа при достаточной укомплектованности штатов желательно использовать «коллегиальный» способ работы. Результат интерфазного FISH-исследования должен быть независимо подтвержден вторым специалистом-цитогенетиком. Проверяющий должен просмотреть 30—70% от общего количества клеток, использованных для анализа. Если специалист, проводивший первичный анализ, и проверяющий получили различные результаты, необходимо участие третьего специалиста (возможно из другой лаборатории) для выработки окончательного заключения. Этот специалист должен быть информирован о предыдущих результатах.

Для контроля FISH-исследований метафазных пластинок используют те же правила, что и для контроля цитогенетического анализа при дифференциальном окрашивании хромосом.

6.1.5 Серийно изготовленные FISH-зонды

Для диагностических целей возможно использование только серийно изготовленных зондов и расходных материалов (согласно ФЗ РФ №323-ФЗ). При этом необходимо тестирование как специфичности исполь-

зуемого зонда к ДНК последовательности-мишени на препарате, так и аналитической чувствительности зондов. Несмотря на то, что для серийно изготовленных зондов эти параметры уже установлены производителем, необходимо самостоятельно оценить долю гибридных сигналов как на нормальных образцах, так и образцах с соответствующими аномалиями. Чувствительность и специфичность должны быть высокими (близкими к 100%), чтобы исключить ошибку. Аналитическую чувствительность и специфичность оценивают по доле мишеней, демонстрирующих сигнал (чувствительность) и по доле сигналов на мишени по сравнению с сигналами на других районах хромосом (специфичность).

Следует также помнить о возможности кросс-гибридизации зонда (связывании зонда с последовательностями ДНК других хромосом), которая характерна для зондов к повторяющимся последовательностям ДНК (зонды к центромерным районам хромосом, районам прицентромерного гетерохроматина и району Yqh). Игнорирование этого фактора может привести к неправильной трактовке результатов интерфазной FISH.

При отсутствии серийно изготовленных зондов на конкретный хромосомный локус возникает необходимость разработки собственных зондов для подтверждения/исключения предполагаемой хромосомной патологии. Разработка зондов должна проводиться специалистом, владеющим соответствующими знаниями и навыками, и/или лабораторией, имеющей опыт в соответствующей области. Полученный зонд/набор зондов может быть использован только в научных целях или должен пройти процедуру регистрации и сертификации в установленном порядке.

Название зонда и производитель, а также любые ограничения использованного зонда должны быть указаны в заключении.

Таблица 4

Минимальное число метафазных пластинок/интерфазных ядер, необходимых для исследования, в зависимости от ДНК-зонда

Тип зонда	Анализ	Комментарии
Локус-специфичные зонды	5 метафазных пластинок	Подсчитывают число сигналов, чтобы исключить или подтвердить аномалию
Анализ с несколькими ДНК-зондами одновременно	3 метафазные пластинки	Для каждого зонда. Подсчитывают число сигналов, чтобы подтвердить нормальный результат. При выявлении аномалии рекомендуют подтверждение другими методами.
Пренатальный скрининг анеуплоидий на интерфазных ядрах	> 50 интерфазных ядер	Для каждого зонда
Скрининг для выявления мозаицизма на интерфазных ядрах	>100 интерфазных ядер	Для каждого зонда

6.1.6 Интерпретация результатов

Специалист, осуществляющий интерпретацию результатов, должен четко знать особенности использованных ДНК-зондов. FISH-исследование позволяет получить информацию только о состоянии локусов, соответствующих использованным зондам, поскольку оно не эквивалентно полному хромосомному анализу. С осторожностью следует интерпретировать результаты FISH на интерфазных ядрах, основанные на использовании зондов к вариабельным по копиям повторяющимся последовательностям, так как в некоторых случаях их размеры могут оказаться недостаточными для эффективной гибридизации.

Запись результатов исследования должна приводиться в соответствии с действующей версией ISCN [3].

7. ПОДТВЕРЖДЕНИЕ АНОМАЛЬНЫХ ИЛИ НЕОПРЕДЕЛЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Лаборатория должна разработать протокол, содержащий правила подтверждения аномальных или неопределенных результатов. Для подтверждения можно применять цитогенетические технологии с использованием дифференциального окрашивания, а также FISH, полимеразную цепную реакцию (ПЦР) или хромосомный микроматричный анализ (ХМА) в зависимости от результата, полученного при использовании той или иной технологии как первичной. Для выявления делеций подходят все эти технологии. Для выявления микродупликаций следует использовать молекулярно-генетические технологии, так как разрешающая способность флуоресцентного микроскопа является недостаточной для разделения двух сигналов при дупликации. В случаях необычных цитогенетических находок необходимо взаимодействие с врачом, направившим на исследование, или

клиническим генетиком. В лаборатории должен быть записан порядок действий при получении противоречивого результата, когда хромосомная аномалия не может быть подтверждена другими методами.

8. НЕВЫПОЛНЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Доля невыполненных исследований во многом зависит от качества образцов, поступивших для исследования и отношения лаборатории к обработке образцов не оптимального качества. С целью выявления внутренних и внешних факторов, оказывающих нежелательные эффекты на качество результатов, лаборатории должны постоянно контролировать долю невыполненных исследований и проводить соответствующие корректирующие мероприятия.

В табл. 5 представлена максимально допустимая доля невыполненных исследований при поступлении образцов удовлетворительного качества в течение года.

Если при исследовании пренатальных образцов для исключения наиболее частых трисомий используют FISH и молекулярно-генетические технологии, доля невыполненных исследований может быть ниже.

9. ЗАКЛЮЧЕНИЕ (ИНТЕРПРЕТАЦИЯ)

9.1 ОБЩИЕ ПРИНЦИПЫ

Оформленный результат цитогенетического исследования обязательно должен включать интерпретацию (Заключение). В ЗаклЮчении должны быть указаны ограничения использованного теста. Интерпретацию результатов контролирует и утверждает руководитель подразделения.

Цитогенетик отвечает за ясное, недвусмысленное описание цитогенетических находок и объяснение кли-

Таблица 5

Максимально допустимая доля невыполненных цитогенетических исследований в зависимости от типа образца и метода приготовления препаратов хромосом

Образец биоматериала/метод приготовления препаратов	Максимально допустимая доля невыполненных исследований*
Долгосрочные культуры клеток амниотической жидкости и ВХ	2%
Прямой метод приготовления препаратов из нативных образцов и краткосрочных органных культур ВХ и плаценты	2%
ФГА-стимулированные лимфоциты периферической крови	2%
ФГА-стимулированные лимфоциты пуповинной крови	2%
Материал, полученный после прерывания неразвивающейся беременности	40%

Примечание: *Если лаборатория принимает образцы нестандартного качества, доля невыполненных исследований может быть выше.

нического значения результата исследования. Следует избегать слишком пространных заключений, так как они мешают ясному пониманию результата.

Заключение должно быть записано в стандартной форме, доступной для прочтения и понимания не цитогенетику, а, в первую очередь, врачу-генетику или другому специалисту, направившему пациента на исследование. В большинстве случаев пациенту цитогенетическое заключение передает врач-генетик, разъясняя его практическое значение. Подписывать заключение должен специалист, ответственный за диагностическую работу. Недопустимо, чтобы после оформления и выдачи заключения в него были внесены какие-либо изменения.

Исследование кариотипа пробанда может быть проведено одновременно с исследованием кариотипов родителей или последовательно. При выявлении хромосомного дисбаланса у пробанда до обследования родителей может быть выдано предварительное заключение. Окончательное заключение о дисбалансе должно быть сделано только после комплексного обследования пробанда и его родителей.

В некоторых случаях заключения могут быть сложными и требовать подробного обсуждения с врачом-генетиком, направившим пациента на исследование. Нет необходимости включать в заключение детали использованных методов, за исключением сведений, имеющих значение в каждом конкретном случае.

9.1.1 Результат стандартного конститутивного цитогенетического исследования

Бланки результата анализа должны включать название и уровень разрешения использованного метода дифференциального окрашивания, а также дополнительных методов анализа, если они применялись. Следует указать способ получения препарата (прямые методы или культивирование клеток).

Если при использовании дополнительных тестов (например, FISH) цитогенетические данные подтверждаются, но никакой дополнительной информации не получено, нет необходимости включать эти данные в формулу кариотипа, они должны быть упомянуты только в перечне использованных методов.

В запись результата должна быть включена следующая информация, применительно к использованному тесту (см. также ГОСТ Р ИСО 15189):

- название и контактные данные лаборатории;
- название проведенного исследования (например, хромосомный анализ или FISH);
- индивидуальный номер образца;
- данные о пациенте, включающие два различных идентификатора, например, фамилия, имя, отчество

(полностью) и дата рождения (должны быть указаны на каждой странице); номер амбулаторной карты/истории болезни (при наличии);

- пол пациента;
- основания для направления на исследование (клинический диагноз);
- фамилия, имя, отчество врача, направившего образец на исследование;
- наименование исследуемого образца/ткани и способ получения препаратов;
- уровень разрешения дифференциального окрашивания;
- общее число подсчитанных и проанализированных клеток при подозрении на мозаицизм при конститутивном анализе и интерфазной FISH (в соответствии с ISCN);
- производитель зондов для FISH (может быть указан в сноске);
- кариотип, записанный в соответствии с действующей версией ISCN, или комплексное заключение, если в дополнение к кариотипированию применяли FISH-исследование или другие методы;
- заключение (исчерпывающее описание результата хромосомного исследования и обнаруженных аномалий, понятное неспециалисту);
- дата приема образца в лабораторию и дата заключения;
- фамилия и подпись специалистов, выполнивших исследование.

В случае обнаружения аномалии запись результата дополнительно должна включать следующую информацию:

- ясное указание, что выявлена хромосомная аномалия с заключением о сбалансированности или несбалансированности кариотипа;
- название синдрома (болезни), обусловленного данной хромосомной аномалией;
- рекомендации обследования возможных носителей наследуемой хромосомной аномалии, начиная с ближайших доступных родственников;
- рекомендации для медико-генетического консультирования.

Лаборатория должна стремиться к тому, чтобы результаты, имеющие серьезные последствия, не сообщали непосредственно пациенту без предоставления адекватной генетической консультации.

9.1.2 Полиморфные варианты

Полиморфные варианты, такие как размер или перцентрическая инверсия гетерохроматинового района, размер спутников и спутничных нитей, интенсивность флуоресценции, не следует указывать в заклю-

чении, чтобы не вводить в заблуждение неспециалистов. Подобные варианты следует отмечать только в лабораторных записях (протокол исследования, рабочий журнал).

Экстремальные варианты полиморфизма могут быть отмечены в тех случаях, когда их идентификация потребовала уточнения с использованием дополнительных методов дифференциальной окраски (QFQ-, CBG-, AgNOR- и т. д.) или FISH.

Если вариант нормального полиморфизма включен в формулу кариотипа, в заключении должна быть подробно разъяснена его клиническая нейтральность.

9.1.3 Мозаицизм и псевдомозаицизм

Решение о наличии мозаицизма принимают в соответствии с рекомендациями [3, 8, 9] (см. также Приложение Б). Клоном или клеточной линией считают наличие двух и более клеток с одинаковой структурной перестройкой, двух и более клеток с одинаковой трисомией/полисомией, трех и более клеток с одинаковой моносомией. Наличие культуральных артефактов, встретившихся при проведении цитогенетического исследования и обусловленных особенностями приготовления хромосомного препарата, в заключении не указывают.

9.1.4 Контаминация материнскими клетками

Если контаминация материнскими клетками могла повлиять на интерпретацию результата, то в заключении необходимо сделать соответствующее примечание. Это должно быть всегда отражено в рабочем лабораторном заключении.

9.1.5 Анализ, не достигающий стандарта

В случаях, когда по качеству или уровню анализ не достигает минимального стандарта, это должно быть отражено в заключении с разъяснениями об ограничениях использования полученного результата.

10. ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Заключение по цитогенетическому исследованию должно быть сделано в максимально короткие сроки. При этом следует учитывать причины, по которым пациент был направлен на исследование, и степень срочности в случаях цитогенетической пренатальной диагностики. Нехватка персонала (дефицит кадров) и административные правила не должны быть причиной задержки выдачи заключения. Окончательное заключение должно быть выдано после того, как будут получены результаты всех анализов и тестов.

В списке услуг лаборатории должны быть указаны сроки выполнения каждого вида исследования. В та-

блице 6 приведены максимально допустимые сроки выполнения анализа в зависимости от показаний для исследования, составляющих 90% всех направлений.

Указанные сроки **не** включают выходные дни и государственные праздники.

Решение о необходимости повторного культивирования клеток в связи с отсутствием или низким темпом колониеобразования должно быть принято не позднее чем через 10 дней после постановки первичной культуры.

Максимальные сроки выдачи заключения по результатам анализа в некоторых случаях могут быть превышены по объективным причинам. Например, для оценки клинической значимости выявленной хромосомной аномалии могут потребоваться дополнительные исследования или обследование родственников пробанда (чаще — обоих родителей, время на получение образцов от которых предсказать невозможно).

10.1. ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

В большинстве случаев выдача предварительного результата не рекомендуется. Предварительный результат может быть устно сообщен руководителем или выполнявшим исследование специалистом с обязательным указанием на предварительный характер результата и включать комментарии относительно типа аномалий, которые пока еще не исключены. Если предварительный результат приходится оформить в виде заключения (в случае обнаружения дополнительного материала неизвестного происхождения, малых сверхчисленных маркерных хромосом и т.п.), то необходимо указать, какие исследования необходимы для уточнения цитогенетического диагноза (обследование родителей, FISH и т.д.).

11. КЛИНИЧЕСКАЯ ДОКУМЕНТАЦИЯ И ХРАНЕНИЕ

11.1 ХРАНЕНИЕ ДОКУМЕНТАЦИИ

Сроки хранения документации, используемой при цитогенетических исследованиях (направления, журналы регистрации, протоколы исследований и т.п.) в настоящее время законодательно не регламентированы и определяются руководителем лечебного учреждения. Мы рекомендуем хранить документацию не менее 20 лет как на бумажных, так и на электронных носителях. На электронных носителях информация может сохраняться в виде базы данных и в виде отдельных файлов. Должна существовать возможность поиска по уникальному номеру образца, дате обращения и данным для идентификации пациента (Ф.И.О., дате

рождения, номеру истории болезни/амбулаторной карты, номеру страхового полиса, адреса проживания, а также другим позициям в зависимости от особенностей работы лаборатории). В отдельном файле, помимо данных, необходимых для идентификации пациента, может содержаться исчерпывающая информация о проведенном анализе (например, число проанализированных метафазных пластинок, способ окраски, результат исследования, галерея файлов с изображениями метафазных пластинок или ядер, название, каталожный номер зонда и его производитель и др.). Рекомендуется сохранять копии выданных результатов исследования в бумажном или электронном виде.

Во избежание утраты данных рекомендуется регулярно делать копии соответствующих файлов. Информация, хранящаяся на электронных носителях, должна быть защищена в соответствии с действующим законодательством о защите персональных данных.

11.2 ХРАНЕНИЕ ОБРАЗЦОВ

Сроки хранения образцов биоматериалов, используемых при цитогенетических исследованиях, в настоящее время законодательно не регламентированы.

Культуры клеток или фиксированная клеточная суспензия должны, по возможности, сохраняться до выдачи окончательного заключения.

Культуру клеток из пренатальных образцов с уникальными перестройками желательно сохранять не менее 6 месяцев после рождения ребенка.

Если аномалия не полностью идентифицирована, криоконсервированные культуры клеток следует сохранять в течение времени, необходимого для её полной идентификации.

Рекомендуется хранить цитогенетические препараты, по которым был проведен анализ, не менее 1 года. Цифровые изображения метафазных пластинок, использованных для исследования, рекомендуется хранить не менее 20 лет. При использовании FISH-метода следует сохранять цифровое изображение, как минимум, двух информативных ядер с результатами метафазной или интерфазной FISH. Цифровые изображения желательно дублировать, и дубли хранить отдельно. Изображения нужно сохранять с защитой от несанкционированного доступа в соответствии с действующим законодательством.

12. ОБЕСПЕЧЕНИЕ КАЧЕСТВА

Система обеспечения качества в каждой цитогенетической лаборатории должна соответствовать действующим Национальным и международным стандартам (ГОСТ Р ИСО15189:2007).

13. АККРЕДИТАЦИЯ И СЕРТИФИКАЦИЯ

Ниже перечислены некоторые положения, касающиеся аккредитации. Более детальную информацию можно найти в документе международных стандартов ISO/IEC 17025:2005, который доступен на русском языке как ГОСТ ИСО/МЭК 17025-2009].

13.1 АККРЕДИТАЦИЯ

Под аккредитацией понимают процедуру официального подтверждения соответствия объекта установленным критериям и показателям (стандарту).

Деятельность органов по аккредитации лабораторий регламентируется международным стандартом ISO/IEC 17011. При положительном исходе процедуры лаборатория получает документ (аттестат аккредитации), который удостоверяет, что лаборатория соответствует требованиям ГОСТ ИСО/МЭК 17025-2009. Функции национального органа по аккредитации в Российской Федерации возложены на Федеральную службу по аккредитации (Росаккредитация).

13.2 СЕРТИФИКАЦИЯ

Сертификация в РФ является добровольной процедурой. Она основана на стандартах, таких как ГОСТ Р ИСО 9001-2008, определяющих «требования для систем управления качеством» и применимых к любой деятельности. Сертификация подтверждает только то, что лаборатория соблюдает стандарты. Она не определяет, удовлетворительно или не удовлетворительно работает лаборатория.

14. ОРГАНИЗАЦИЯ И УПРАВЛЕНИЕ ЛАБОРАТОРИЕЙ

Обязанность административного штата — осуществление четкой организации работы и управления лабораторий. При этом руководство должно придерживаться ГОСТ Р ИСО 151189-2015. В лаборатории должна проводиться политика, направленная на поддержание качества исследований и его дальнейшего и постоянного совершенствования.

Администрация также отвечает за планирование, исполнение, поддержание и улучшение системы управления качеством.

Существуют определенные требования по работе с персоналом для руководства лабораторией, включающие: набор и отбор персонала, определение должностных обязанностей, описание работы и составление договоров, учет и контроль, проведение собраний, обучение и подготовку, рассмотрение жалоб, а также мероприятия по поддержанию дисциплины. Руководитель лаборатории должен обеспечить, чтобы для всех

пре- и постаналитических процедур существовали СОП.

Пространство лаборатории должно быть организовано таким образом, чтобы обеспечить качественное выполнение работы, качественный контроль процедур, безопасность пациентов и персонала.

15. РУКОВОДСТВО ПО КАЧЕСТВУ

В данном руководстве приведена система управления качеством в лаборатории и мероприятия по обеспечению и поддержанию качества, включая все методики проведения лабораторных исследований. В лаборатории должны быть определены функциональные обязанности, ответственность и полномочия всех сотрудников, мероприятия и порядок осуществления контроля качества клинических материалов и документации. Руководство по качеству должно соответствовать ГОСТ Р ИСО15189.

В каждой лаборатории должен быть сотрудник, ответственный за качество, контролирующий обеспечение, поддержание и контроль качества (внутрилабораторный и внешний), а также контроль деятельности персонала.

16. ЗАЩИТА ДАННЫХ И КОНФИДЕНЦИАЛЬНОСТЬ

Конфиденциальность и защита генетической информации очень важны и должны обеспечиваться в соответствии с действующими нормативами и законами.

Генетические данные могут содержать информацию, имеющую значение не только для обследованного пациента. Поэтому желательно, чтобы файлы с результатами генетических исследований не были доступны другим подразделениям организации. При наличии в организации внутренней или внешней электронной сети следует использовать специальный пароль для защиты информации от посторонних лиц.

17. ДОКУМЕНТАЛЬНЫЙ КОНТРОЛЬ ПРОЦЕДУР И ПРОТОКОЛОВ

Документальный контроль процедур и протоколов определяется ГОСТ Р ИСО15189. Все протоколы и методики должны быть подробно документированы и утверждены руководителем или главным специалистом лаборатории. Изменения в протоколах и методиках должны быть датированы таким образом, чтобы для каждой процедуры можно было установить, какой протокол был использован в день исследования. Все СОП должны быть однозначно идентифицированы, иметь

дату пересмотра или дату создания, пересмотренную версию, общую нумерацию страниц и фамилию утвердившего лица.

Рекомендуется ежегодный пересмотр протоколов, процедур и руководств. Все изменения должны быть датированы и подписаны лицом, ответственным за внутренний контроль качества. Необходим четкий документальный контроль, чтобы можно было легко установить, какая версия СОП является действующей в настоящий момент; остальные версии должны храниться таким образом, чтобы предотвратить использование устаревшего документа.

Сроки хранения устаревших версий определяет руководитель лечебного учреждения (рекомендуется не менее 20 лет).

18. ТРЕБОВАНИЯ К ОБЕСПЕЧЕНИЮ БЕЗОПАСНОСТИ ТРУДА МЕДИЦИНСКОГО ПЕРСОНАЛА

Требования по безопасности в цитогенетической лаборатории должны соответствовать ГОСТ Р 52905-2007. В лаборатории должен быть сотрудник, ответственный за технику безопасности. Его задачами являются обеспечение надежности и безопасности практической работы и сведение к минимуму опасности инфицирования и причинения другого вреда здоровью персонала, пациентов и посетителей.

Работа организаций, в которых проводятся цитогенетические исследования, регламентирована законодательством РФ.

Лица, отвечающие за сбор, доставку и анализ образцов биологического материала, должны руководствоваться правилами и техникой безопасности при работе с ними. Все образцы биологического материала считают потенциально опасными, так как могут содержать патогенные микроорганизмы.

Персонал, непосредственно участвующий в проведении цитогенетических исследований, обязан строго придерживаться общих стандартов по формированию и поддержанию безопасности рабочей среды в медицинских лабораториях при манипуляциях с образцами биологического материала пациентов, химическими реактивами и другими объектами потенциальной опасности для здоровья людей.

Все сотрудники должны выполнять инструкции и правила техники безопасности, изложенные в технических паспортах к электрическим приборам, используемым в технологии (центрифуги, термостаты и др.); персонал, работающий с реактивами, должен быть обучен обращению с ними, использовать средства персональной защиты, соблюдать правила личной гигиены.

Для предупреждения пожаров необходимо соблюдать правила пожарной безопасности в соответствии с действующими нормативными документами.

Сбор, временное хранение, обеззараживание и транспортировку потенциально опасных отходов, загрязненных остатками биологического материала, образующихся в процессе выполнения технологии, следует проводить в соответствии с действующими санитарными правилами и нормами (СанПиН 2.1.7.2790). Отходы, содержащие (потенциально содержащие) микроорганизмы (материалы и инструменты, предметы, загрязненные кровью и/или другими биологическими жидкостями) (отходы класса Б) подлежат обязательному обеззараживанию (дезинфекции). Сбор, хранение и утилизацию отходов проводят в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.7.2790-10.

19.ОБОРУДОВАНИЕ, ИНФОРМАЦИОННЫЕ СИСТЕМЫ И МАТЕРИАЛЫ

Организация помещений, требования к оборудованию и правила работы в лаборатории, выполняющей цитогенетические исследования, должны соответствовать ГОСТ Р ИСО 15189. Лаборатория в соответствии с этапами проведения анализа должна включать набор последовательно расположенных самостоятельных рабочих зон (помещений) или отдельно выделенных рабочих зон в составе других функциональных помещений.

19.1 ОБОРУДОВАНИЕ

Для выполнения исследований используют стандартное оборудование, серийно изготовленные диагностические наборы реагентов, реагенты и расходные материалы, имеющие соответствующие сертификаты качества и действующий срок годности, разрешенные к применению на территории РФ в установленном порядке.

Следует проводить инвентаризацию всего лабораторного оборудования с указанием даты приобретения, производителя и серийного номера. Должны производиться записи об обслуживании оборудования согласно договору, а также обо всех его неисправностях.

Закупка, содержание и использование оборудования проводятся в соответствии с установленными правилами. Следует провести калибровку всего оборудования и полную оценку риска его неисправности до начала работы персонала на данном оборудовании.

19.2 ИНФОРМАЦИОННЫЕ СИСТЕМЫ

Все информационные системы должны иметь системы резервного копирования и программы для хра-

нения, архивирования и информационного поиска. Кроме того, данные должны быть защищены паролем и, если требуется, программами по защите и безопасному хранению данных.

19.3 РЕАКТИВЫ

Должен существовать контроль качества реактивов, включающий: верификацию полученных материалов, их безопасное размещение, опись всех номеров (позволяющую проводить вертикальный и горизонтальный контроль в журнале, а при необходимости — проверку партии или маркировки). Для всех химических реагентов должна существовать оценка риска того, насколько они опасны для здоровья, которая включает инструкцию по обезвреживанию и перечень мероприятий, которые следует проводить в случае, если они разлились, попали на кожу или слизистые, в дыхательные пути или пищеварительный тракт. Дополнительную информацию можно найти в ГОСТ Р ИСО15189.

20. ОБУЧЕНИЕ И ПОДГОТОВКА ПЕРСОНАЛА ЛАБОРАТОРИИ

Руководитель лаборатории несет ответственность за то, чтобы персоналу была предоставлена возможность участия в образовательных программах в соответствии с характером деятельности лаборатории. В лаборатории должен быть регистр, содержащий информацию о базисном образовании, курсах повышения квалификации и т.п. для каждого сотрудника. Желательно всячески стимулировать сотрудников к повышению их квалификации. Каждый член коллектива должен иметь перечень должностных обязанностей и экземпляр трудового договора в письменной форме.

21.ПРЕАНАЛИТИЧЕСКИЙ ЭТАП

С соответствии ГОСТ Р ИСО15189 в организации (в том числе на сайте организации) должна быть информация о цитогенетической лаборатории (группе) для пациентов и медицинских учреждений, включающая местонахождение и время работы лаборатории, контактные данные, детальное описание диагностических услуг, требования к образцам и необходимой сопроводительной информации. Рекомендации по приему и хранению образцов должны быть разработаны и утверждены заведующим лабораторией. При регистрации каждому образцу должен присваиваться уникальный идентификационный номер, чтобы свести к минимуму вероятность перекрестной контаминации или ошибочной маркировки образцов в про-

цессе обработки. Если имеется несоответствие данных направления и образца, необходимо связаться с направляющим врачом. Если по просьбе врача образец все-таки будет принят, должна быть сделана запись, что направивший врач был информирован и несет ответственность за диагностические ошибки, обусловленные несоблюдением требований к образцу.

СОП для всех диагностических процедур должны быть доступны в письменном виде.

21.1 МАРКИРОВКА МАТЕРИАЛА ДЛЯ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

На этикетке пробирки указывают фамилию и инициалы пациента, а также дату взятия образца. В сопроводительном документе (направлении) к биоматериалу должно быть указано:

- наименование учреждения, которое направляет биоматериал, телефон, адрес электронной почты;
- фамилия и инициалы обследуемого лица;
- дата рождения;
- пол;
- дата взятия биоматериала;
- клинический диагноз или повод к обследованию;
- дата отправки биоматериала;
- фамилия, имя, отчество и должность сотрудника, отправившего биоматериал;
- контактный телефон, по которому можно связаться с данным сотрудником;
- сведения о проведении пациенту химиотерапии или рентгеновского исследования в течение года перед направлением.

Направление биообразца для **пренатальной диагностики** должно содержать сведения о направляющем учреждении, данные о пациентке (Ф.И.О., дату рождения, номер амбулаторной/стационарной карты), показания к инвазивной пренатальной диагностике (подробное описание выявленных при УЗИ отклонений в развитии плода, значения маркерных белков, кариотип родителей, если он ранее был исследован и т.д.), срок беременности на момент проведения инвазивного вмешательства с целью получения плодного материала, название и дату манипуляции, Ф.И.О. и контактные данные оперировавшего акушера и врача-генетика (направляющего врача). В направлении обязательно должно быть отмечено время операции (получения образца), способ обработки образца перед отправкой в лабораторию (тесты на контаминацию, удаление децидуальной ткани и пр.), если таковая проводилась. Направление должно содержать также дополнительную информацию (о результатах проведенных ранее исследований, если образец взят повторно;

проводится ли параллельное исследование и какими методами и т.д.).

После доставки образца в лабораторию сотрудник, принимающий материал, должен проверить правильность оформления направления на исследование, маркировку пробирок с образцами биологического материала, их целостность и зарегистрировать поступивший материал в рабочем журнале в бумажной и/или электронной форме.

В лабораторном журнале регистрации образцов отмечают время получения образца, способ (курьер, родственники и проч.) и условия доставки (контейнер, температурный режим и др.) с подписями курьера и регистратора лаборатории.

Критерии отказа лаборатории от приема биообразца:

- 1) расхождение между данными направления и маркировкой образца (инициалы, дата, время и т.п.);
- 2) отсутствие маркировки на флаконе /контейнере с образцом;
- 3) невозможность прочесть на направлении данные пациента, фамилии и подписи врачей, отсутствие перечня необходимых исследований;
- 4) гемолиз;
- 5) несоответствующая емкость/среда — материал взят в контейнер не с тем антикоагулянтом, консервантом;
- 6) наличие сгустков в пробах с антикоагулянтом;
- 7) емкость с просроченным сроком годности;
- 8) превышение сроков хранения образца между получением и доставкой;
- 9) нарушение условий транспортировки (например, замораживание или перегрев);
- 10) непригодность образца для указанного в направлении исследования в связи с количественными/качественными характеристиками.

В случаях, если лаборатория все-таки принимает образцы несоответствующего качества, это должно быть указано в лабораторных журналах и сообщено направляющему врачу. При этом сотрудники лаборатории должны осознавать, что принимая образцы ненадлежащего качества, они несут ответственность за возможные диагностические ошибки.

В лаборатории должны быть разработаны СОП для преаналитических этапов, включая правила приема образцов в лабораторию. Хранение и безопасное размещение образцов должны соответствовать правилам, принятым в данном медицинском учреждении.

22. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ

Для всех диагностических процедур должны существовать описания СОП.

Все исследования образца должны быть документированы таким образом, чтобы можно было проследить весь процесс их проведения. Должна быть возможность установить, кто и что делал в данный день, какая партия реактивов была использована, какой протокол был применен и т.п.

23. ПОСТНАЛИТИЧЕСКИЕ ЭТАПЫ – КОНТРОЛЬ И УТВЕРЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Результат оформляет сотрудник, непосредственно проводивший исследование. Запись результата должна быть утверждена заведующим лабораторией. При организации работы по «коллегияльному» способу результат подписывают оба специалиста, проводивших исследование.

24. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА ЛАБОРАТОРНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Организация контроля качества лабораторных исследований обеспечивается внедрением системы управления качеством в соответствии с ГОСТ ИСО/МЭК 17025 и ГОСТ Р ИСО 15189. Система управления качеством предусматривает внутрилабораторные контрольные процедуры и внешний контроль. В рамках организации контроля качества большое внимание необходимо уделять разработке и внедрению на рабочих местах СОП. С целью предотвращения появления недостоверных результатов, необходимо соблюдать требования по организации лаборатории, правила работы персонала с оборудованием и реактивами, и требования, указанные в инструкции и методических рекомендациях производителей конкретного набора реагентов.

24.1 ВНУТРИЛАБОРАТОРНЫЙ КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Система внутрилабораторного контроля качества предназначена для подтверждения качества результата. Подготовка, создание, мониторинг и поддержание лабораторных стандартов являются обязанностью заведующего лабораторией.

Должны быть установлены:

- уровень разрешения дифференциального окрашивания для каждой направляемой категории образцов;
- критерии оценки уровня дифференциального окрашивания;
- минимальная эффективность гибридизации, специфичность и уровень чувствительности зондов;
- процедуры исправления, если не достигнут необходимый уровень разрешения;
- максимальная доля невыполненных исследований.

Уровни разрешения дифференциального окрашивания не должны быть ниже уровня, установленного данными ПР. Руководитель лаборатории или отделения должен постоянно получать информацию, касающуюся текущей работы лаборатории.

Лабораториям следует регулярно контролировать размер доли невыполненных анализов и общее качество препаратов. Если качество исследований опускается ниже установленных критериев, следует установить причину и принять меры для исправления этих недостатков.

Следует стремиться, чтобы все меры, предпринятые для выявления и устранения проблем, были документированы. Во избежание ошибок следует регулярно проводить контроль процедур, анализа и оформления заключения.

24.2 ВНЕШНИЙ КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Внешний контроль качества осуществляют организации, имеющие соответствующую лицензию, в соответствии с требованиями ГОСТ ИСО/МЭК 17025 и ГОСТ Р ИСО 15189 в форме участия в межлабораторных сравнительных испытаниях и/или программах проверки квалификации по показателям и с периодичностью в соответствии с установленными требованиями и потребностью лабораторий. В случае неудовлетворительной оценки полученных результатов в лаборатории необходимо принимать экстренные меры по устранению ошибок.

А. ПОКАЗАНИЯ ДЛЯ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА

Цитогенетическое обследование необходимо в тех случаях, когда у врача возникает подозрение, что состояние или заболевание у пациента может быть обусловлено хромосомной аномалией. И хотя эти заболевания хорошо известны большинству врачей, направляющих пациентов в цитогенетическую лабораторию, представленный ниже перечень может быть полезен при постановке диагноза, особенно если эти показания используются в сочетании с международной классификацией болезней (действующая версия МКБ-10). Эти показания могут служить руководством к проведению мониторинга причин направления пациентов и планирования нагрузки в цитогенетической лаборатории.

1. КЛИНИЧЕСКИЕ ПОКАЗАНИЯ ДЛЯ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКОЙ ПРЕНАТАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКИ (Образцы амниотической жидкости, ворсинчатого хориона, плаценты, пуповинной крови плода)

- аномальный кариотип у родителей;
- высокий риск хромосомных заболеваний у будущего ребенка по результатам комбинированного пренатального скрининга I триместра беременности (комплексный расчет на основании базового риска с учетом возраста, срока беременности и анамнеза беременной, данных УЗИ плода и уровня сывороточных материнских маркеров)
- высокий риск хромосомных заболеваний по данным ультразвукового исследования плода во II триместре беременности
- наличие хромосомной аномалии у предыдущего ребенка в семье;
- мертворожденный ребенок с хромосомной аномалией;
- подозрение на мозаицизм у плода по результатам первого пренатального исследования;
- риск синдрома хромосомной нестабильности.

2. КЛИНИЧЕСКИЕ ПОКАЗАНИЯ ДЛЯ ПОСТНАТАЛЬНОГО ИССЛЕДОВАНИЯ КОНСТИТУТИВНОГО КАРИОТИПА (Периферическая кровь, фибробласты)

У пациента:

- множественные врожденные пороки развития;
- множественные микроаномалии развития;
- низкий вес при рождении;

- аномальное строение половых органов, неопределенный пол;
- умственная отсталость, отставание в психомоторном развитии;
- выраженные отклонения в росте (низкий рост, высокий рост) и размерах головы (микроцефалия, макроцефалия);
- отставание в физическом и половом развитии;
- первичная или вторичная аменорея или ранняя менопауза;
- аномальная спермограмма — азооспермия или выраженная олигозооспермия;
- клинические проявления синдрома микроструктурной аномалии;
- X-сцепленное рецессивное заболевание у женщин

У супружеских пар:

- бесплодие неясной этиологии;
- репродуктивные потери, врожденные пороки развития плода или мертворождения невыясненной этиологии;
- наличие у ребенка хромосомной аномалии или необычного хромосомного варианта;
- наличие хромосомной аномалии в семье;
- умственная отсталость у родственника, при невозможности обследования больного;
- хромосомные аномалии или необычные хромосомные варианты у плода, обнаруженные при пренатальной диагностике;
- хромосомные аномалии, выявленные при исследовании биоматериала спонтанных выкидышей, тканей мертворожденного или плода с пороками развития неизвестной этиологии, а также биоматериала, полученного после прерывания беременности в связи с наличием врожденных пороков развития у плода или при неразвивающейся беременности.

3. КЛИНИЧЕСКИЕ ПОКАЗАНИЯ ДЛЯ FISH-ИССЛЕДОВАНИЯ В КОНСТИТУТИВНОЙ ЦИТОГЕНЕТИКЕ

У пациентов:

- подозрение на микроструктурную аномалию, для которой доступно диагностическое тестирование;
- повышенный риск микроструктурной аномалии по анамнестическим данным;
- клинические признаки, позволяющие предположить мозаицизм при определенных хромосомных синдромах;

- подозрение на хромосомную аномалию по результатам стандартного цитогенетического исследования, если FISH-исследование позволит уточнить характер аномалии;

- наличие сверхчисленной маркерной хромосомы;
- подозрение на субтеломерную перестройку, а также наличие субтеломерной перестройки у родственников.

Показания для метафазной FISH:

- маркерные хромосомы;
- дополнительный материал неизвестного происхождения на хромосоме;
- хромосомные перестройки;
- подозрение на делецию/дупликацию хромосомного сегмента;
- мозаицизм.

Показания для интерфазной FISH:

- числовые хромосомные аномалии;
- дупликации;
- делеции;
- хромосомные перестройки;
- мозаицизм;

Показания для пренатального скрининга анеуплоидий (трисомии по хромосомам 13, 18, 21, моносомии X):

- высокий риск указанной патологии по результатам раннего пренатального скрининга и/или биохимического скрининга во 2-м триместре беременности.

Б. ОЦЕНКА УРОВНЯ МОЗАИЦИЗМА

В соответствии с лабораторным результатом первичного стандартного анализа культивированных клеток, принято различать 3 уровня мозаицизма *in vitro*, а именно:

Уровень I: Хромосомная аномалия в одной клетке, обнаруженная при стандартном анализе. Если аномалия не подтверждена при анализе дополнительных клеток (см. таблицу 1), то ее признают культуральным артефактом (псевдомозаицизмом), не заносят в формулу кариотипа и не упоминают в заключении.

Уровень II: Одна и та же хромосомная аномалия в двух или более клетках обнаружена на препаратах из суспензии клеток из одного культурального флакона (или в одной-двух колониях из одной культуры при фиксации *in situ*). Если аномалия не подтверждена при анализе дополнительных клеток из других независимых культур (или из других колоний из других независимых культур) (см. табл. 1), то аномалию признают псевдомозаицизмом и игнорируют.

Уровень III: Одна и та же хромосомная аномалия обнаружена в двух или более клетках из двух и более независимых культур. Уровень III наиболее вероятно соответствует истинному мозаицизму. При записи формулы кариотипа в соответствии с ISCN рекомендуется в квадратных скобках указать число проанализированных клеток из каждой клеточной линии. В заключении рекомендуется указать, что обнаруженный

Таблица 1

Рекомендуемый объем дополнительных исследований для выяснения уровня мозаицизма при анализе клеточных культур (хорион, амниоциты) [8, 12]

Аномалия	Обнаружены на препаратах из клеточной суспензии	Обнаружены при анализе отдельных колоний
45,X Несбалансированные структурные перестройки Сбалансированные структурные перестройки Разрыв в центромере с утратой целого плеча	Если обнаружены в одной метафазе при анализе 20 клеток из двух независимых культур — дополнительные исследования не требуются	Если обнаружены в одной из 20 метафаз при анализе клеток из 15-ти колоний в двух независимых культурах — дополнительные исследования не требуются
Дополнительные половые хромосомы Трисомии аутосом 1, 3, 4, 6, 7, 10, 11, 17, 19 45,X Моносомии аутосом Маркерные хромосомы Несбалансированные структурные перестройки Сбалансированные структурные перестройки	Если обнаружены в одной-двух метафазах на препаратах из одного культурального флакона — рекомендуется дополнительный анализ не менее чем по 20 метафаз из каждой независимой культуры	Если обнаружены в одной-двух клетках в одной или нескольких колониях из одного флакона/чашки — рекомендуется дополнительный анализ клеток в 12 колониях из каждого культурального флакона/чашки
Трисомии аутосом 2, 5, 8, 9, 12, 13, 14, 15, 16, 18, 20, 21 или 22 Несбалансированные структурные перестройки Сбалансированные структурные перестройки Маркерные хромосомы	Если обнаружено несколько метафаз при анализе 20 клеток — рекомендуется дополнительный анализ не менее чем по 20 метафаз из 2-х разных независимых культур, не считая проанализированных при первичном анализе	Если аномалия обнаружена в нескольких клетках в одной или нескольких колониях из одного флакона/чашки — рекомендуется дополнительный анализ клеток из 24-х колоний из разных независимых культур, не считая проанализированных при первичном анализе

межклеточный мозаицизм может не отражать уровень мозаицизма в других тканях.

Объем дополнительных исследований для выяснения уровня мозаицизма связан как с хромосомой специфичностью, так и с методом приготовления препаратов (анализ суспензии клеток или отдельных колоний).

Учитывая, что уровень межклеточного мозаицизма в разных тканях может различаться, при анализе мозаицизма, включая дополнительные исследования, рекомендуется руководствоваться принципом диагностической целесообразности и разумной достаточности.

В случае обнаружения единичных клеток с хромосомной аномалией на препаратах, приготовленных прямым методом из нативных образцов или краткосрочных органных культур хориона, рекомендуется исследовать все метафазные пластинки (на всех полученных препаратах). При этом вероятность подтверждения на амниоцитах мозаицизма, обнаруженного в трофобласте, зависит от типа хромосомной аномалии (**табл. 2**).

Следует помнить, однако, что при выполнении любых исследований часть случаев мозаицизма может быть пропущена или ошибочно интерпретирована (например, низкоуровневый мозаицизм).

Вероятность исключения мозаицизма при метафазном анализе определяется числом проанализированных клеток (**табл. 3**).

В. НОРМАТИВНЫЕ ДОКУМЕНТЫ

1. Приказ Минздрава России от 08.10.2015 № 707н «Об утверждении Квалификационных требований к медицинским и фармацевтическим работникам с высшим образованием по направлению подготовки «Здравоохранение и медицинские науки» (Приказ МЗ РФ №707н).

2. Приказ Минздрава РФ от 30.12.1993 № 316 (ред. от 05.08.2003) «О дальнейшем развитии медико-генетической службы Министерства здравоохранения Российской Федерации»

3. СанПиН 2.1.3.2630-10 (2016) «Санитарно-эпидемиологические требования к организациям, осуществляющим медицинскую деятельность»

4. Федеральный закон «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации №323-ФЗ» от 21 ноября 2011 г

5. Национальный стандарт РФ ГОСТ Р ИСО15189-2015 «Лаборатории медицинские. Частные требования к качеству и компетентности»

6. Федеральный Закон «О внесении изменений в отдельные законодательные акты Российской Федерации в части противодействия обороту фальсифицированных, контрафактных, недоброкачественных и незарегистрированных лекарственных средств, медицинских изделий и фальсифицированных биологически активных добавок» от 31.12.2014 № 532-ФЗ; Постановление Правительства РФ от 01.12.2009 № 982 (в редакции от 21.02.2018)

7. ISO/IEC 17025:2005, (доступен на русском языке как ГОСТ ИСО/МЭК 17025-2009) [<http://docs.cntd.ru/document/1200085223>]

8. ISO/IEC 17011, (доступен на русском языке как ГОСТ ИСО/МЭК 17011-2009 «Общие требования к компетентности испытательных и калибровочных лабораторий») [<http://docs.cntd.ru/document/1200079550>]

9. ГОСТ Р ИСО 9001-2008 «Системы менеджмента качества. Требования»

10. ГОСТ Р 52905-2007 «Лаборатории медицинские. Требования безопасности».

Таблица 2

Вероятность обнаружения мозаицизма в амниоцитах при обнаружении аномальной клеточной линии в трофобласте [12]

Аномалия в хорионе	Частота подтверждения в амниоцитах	Комментарии
47,+mar	31,6%	
Анеуплоидия по половым хромосомам	26,0%	Риск моносомии X выше при аномалиях развития, выявленных при УЗИ
Частые трисомии (13, 18, 21)	20,0%	
Трисомии по другим аутосомам	2,8%	Риск мозаицизма в клетках плода при трисомиях 8, 9, 12, 15, 20 выше, чем при трисомиях 2, 3, 5, 7, 10, 11, 14, 16, 17, 22. Вероятность хромосомной аномалии выше, если при УЗИ выявлены аномалии развития плода.
Структурные перестройки	9,9%	
Полিপloidия	3,3%	

Уровень (%) мозаицизма, который исключается с вероятностью 0,90, 0,95 и 0,99 в зависимости от числа исследованных метафазных пластинок (при обнаружении в них одинакового кариотипа) [9].

Число метафазных пластинок (n)	Доверительный интервал			Число метафазных пластинок (n)	Доверительный интервал		
	0,90	0,95	0,99		0,90	0,95	0,99
< 4	36	7%	8%	13%
5	38%	37	7%	8%	12%
6	32%	41%	...	38	6%	8%	12%
7	29%	35%	...	39	6%	8%	12%
8	26%	32%	46%	40	6%	8%	11%
9	23%	29%	41%	41	6%	8%	11%
10	21%	26%	37%	42	6%	7%	11%
11	19%	24%	35%	43	6%	7%	11%
12	18%	23%	32%	44	6%	7%	10%
13	17%	21%	30%	45	5%	7%	10%
14	16%	20%	29%	46	5%	7%	10%
15	15%	19%	27%	47	5%	7%	10%
16	14%	18%	26%	48	5%	7%	10%
17	13%	17%	24%	49	5%	6%	9%
18	13%	16%	23%	50-55	5%	6%	9%
19	12%	15%	22%	56	5%	6%	8%
20	11%	14%	21%	57-58	4%	6%	8%
21	11%	14%	20%	59-63	4%	5%	8%
22	10%	13%	19%	64-73	4%	5%	7%
23	10%	13%	19%	74	4%	4%	7%
24	10%	12%	18%	75	4%	4%	6%
25	9%	12%	17%	76-89	3%	4%	6%
26	9%	11%	17%	90-98	3%	4%	5%
27	9%	11%	16%	99-112	3%	3%	5%
28	8%	11%	16%	113	3%	3%	4%
29	8%	10%	15%	114-148	2%	3%	4%
30	8%	10%	15%	149-151	2%	2%	4%
31	8%	10%	14%	152-227	2%	2%	3%
32	7%	9%	14%	228-229	2%	2%	2%
33	7%	9%	14%	230-298	1%	2%	2%
34	7%	9%	13%	299-458	1%	1%	2%
35	7%	9%	13%	>459	1%	1%	1%

Примечание. Для числа проанализированных клеток (n) в соответствующих столбцах указан наибольший процент мозаицизма, который можно исключить с соответствующей вероятностью. Например, если проанализированы 52 клетки, наименьший уровень мозаицизма, который может быть исключен с вероятностью 95%, составляет 6%. Другими словами, поскольку наибольший уровень мозаицизма составляет 50%, обнаружение одинакового кариотипа в 52 клетках с 95% вероятностью исключает уровень мозаицизма от 50% до 6%, однако не исключает уровень мозаицизма 5% и менее. Чтобы определить число клеток, необходимое для исключения определенного уровня мозаицизма, например 10% и больше, нужно выбрать наименьшее значение n, при котором значение 10% появляется в колонке. Наличие мозаицизма 10% и более, например, с вероятностью 90% позволяет исключить анализ 22-х, с вероятностью 95% — 29 и с вероятностью 99% — 44-х метафазных пластинок.

11. СанПиН 2.1.7.2790-10 «Правила сбора, хранения и удаления отходов лечебно-профилактических учреждений»

12. Постановление Главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 9 декабря 2010 г. N 163 «Об утверждении СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами»

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают искреннюю признательность всем коллегам, принявшим активное участие в обсуждении, внесении предложений и комментариев в проект настоящих рекомендаций, в т.ч. Ижевской В.Л., Курило Л.Ф., Калининковой С.Г., Кузиной Н.Ю., Иванову Е.А., коллективу Отдела клинической и молекулярной генетики ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И.Кулакова» Минздрава России, Трофимовой И.Л., Ивановой А.С., Садик Н.А., Смирновой М.В., Прозоровой М.В., Михайлик Л.И., Шапкиной Н.Н., Тюриной О.В., Михайловой И.Е., Железновой М.А., Комковой Г.В., Калашниковой Е.А., Ковалевой Н.В., Опариной Н.В., коллективу отделения цитогенетики Республиканского центра медицинской генетики и пренатальной диагностики, г. Донецк

Список литературы

1. Hastings R., Howell R., Bricarely F.D., Kristofesson U., Cavani S. General Guidelines and Quality Assurance for Cytogenetics. E.C.A. 2012; 29: 11-25.
2. Hastings R., Howell R., Bricarely F.D., Kristofesson U., Cavani S. Specific Constitutional Cytogenetic Guidelines. E.C.A. 2012; 30: 7-19.
3. ISCN 2016 - An International System for Human Cytogenomic Nomenclature (2016) Ed. McGowan-Jordan J, Simons A, Schmid M. Karger. 2016.
4. Waters J.J., Rodgers C.S. J Assoc Genet Tech. 1998; 24 (4): 113-119.
5. Назаренко С.А., Васильева Е.О. Тест-система внешнего контроля качества цитогенетических исследований в учреждениях медико-генетической службы. Новосибирск: Альфа Виста. 2005; 7: 60-81.
6. EUCROMIC Quality Assessment Group. Eur J Hum Genet. 1997; 5: 342-350.
7. Association of clinical Cytogenetic working party on chorionic villus in prenatal diagnosis. Cytogenetic analysis of chorionic villus for prenatal diagnosis: an ACC collaborative study of U.K. data. Prenat Diagn. 1994; 14: 363-373.
8. ACC Professional Guidelines for clinical Cytogenetic Prenatal Diagnosis. Best Practice Guidelines, 2009; 1.00. www.acgs.uk.com/acc_prenatal_bp_dec2009_1.00.doc.
9. Hook E.B. Exclusion of chromosomal mosaicism: Tables of 90%, 95% and 99% confidence limits and comments on use. Am J Hum Genet. 1997; 29: 94-97.
10. Guttenbach M., Koschorz B., Bernthaler U., Grimm T., Schmid M. Sex chromosome loss and aging: in situ hybridization studies on human interphase nuclei. Am J Hum Genet. 1995; 57: 1147-1150.
11. Gardner R.J., Sutherland G.R. Chromosome abnormalities and counseling. Fourth edition. University press. 2012; Oxford, New York.
12. Gardner R.J., Amor D.J. Gardner and Sutherland's Chromosome Abnormalities and Genetic Counseling (5 ed.) Oxford University Press 2018.
13. Russell L.M., Strike .P, Browne C.E., Jacobs P.A. X chromosome loss and ageing. Cytogenetic and Genomic Research. 2007; 116: 181-185.
14. Hsu L.I.F. et al. Incidence and significance of chromosomal mosaicism involving an autosomal structural abnormality diagnosed prenatally through amniocentesis. Prenat. Diagn. 1996; 16: 1-28.
15. Hsu L.I.F. et al. Rare trisomy mosaicism diagnosed in amniocentes, involving autosomes other than chromosomes 13, 18, 21: Karyotype/phenotype correlation. Prenat. Diagn. 1997; 17: 201-242.
16. Kotzot D. Review and Meta-analysis of systematic searches for UPD other than UPD 15. Am J Med Genet. 2002; 111: 366-375.
17. Robinson W.P. et al. Cytogenetic and age-dependent risk factors associated with uniparental disomy 15. Prenat. Diagn. 1996; 16: 837-844.

References

1. Hastings R., Howell R., Bricarely F.D., Kristofesson U., Cavani S. General Guidelines and Quality Assurance for Cytogenetics. E.C.A. 2012; 29: 11-25.
2. Hastings R., Howell R., Bricarely F.D., Kristofesson U., Cavani S. Specific Constitutional Cytogenetic Guidelines. E.C.A. 2012; 30: 7-19.
3. ISCN 2016 - An International System for Human Cytogenomic Nomenclature (2016) Ed. McGowan-Jordan J, Simons A, Schmid M. Karger. 2016.
4. Waters J.J., Rodgers C.S. J Assoc Genet Tech. 1998; 24 (4): 113-119.
5. Nazarenko S.A., Vasilyeva E.O. Test-sistema vneshnego kontrolya kachestva tsitogeneticheskikh issledovaniy v uchrezhdeniyakh mediko-geneticheskoy sluzhby [Test system of external quality control of cytogenetic research in institutions of medical and genetic services]. Novosibirsk: Alpha Vista. 2005; 7: 60-81. (In Rus)
6. EUCROMIC Quality Assessment Group. Eur J Hum Genet. 1997; 5: 342-350.
7. Association of clinical Cytogenetic working party on chorionic villus in prenatal diagnosis. Cytogenetic analysis of chorionic villus for prenatal diagnosis: an ACC collaborative study of U.K. data. Prenat Diagn. 1994; 14: 363-373.
8. ACC Professional Guidelines for clinical Cytogenetic Prenatal Diagnosis. Best Practice Guidelines, 2009; 1.00. www.acgs.uk.com/acc_prenatal_bp_dec2009_1.00.doc.
9. Hook E.B. Exclusion of chromosomal mosaicism: Tables of 90%, 95% and 99% confidence limits and comments on use. Am J Hum Genet. 1997; 29: 94-97.
10. Guttenbach M., Koschorz B., Bernthaler U., Grimm T., Schmid M. Sex chromosome loss and aging: in situ hybridization studies on human interphase nuclei. Am J Hum Genet. 1995; 57: 1147-1150.
11. Gardner R.J., Sutherland G.R. Chromosome abnormalities and counseling. Fourth edition. University press. 2012; Oxford, New York.
12. Gardner R.J., Amor D.J. Gardner and Sutherland's Chromosome Abnormalities and Genetic Counseling (5 ed.) Oxford University Press 2018.
13. Russell L.M., Strike .P, Browne C.E., Jacobs P.A. X chromosome loss and ageing. Cytogenetic and Genomic Research. 2007; 116: 181-185.
14. Hsu L.I.F. et al. Incidence and significance of chromosomal mosaicism involving an autosomal structural abnormality diagnosed prenatally through amniocentesis. Prenat. Diagn. 1996; 16: 1-28.
15. Hsu L.I.F. et al. Rare trisomy mosaicism diagnosed in amniocentes, involving autosomes other than chromosomes 13, 18, 21: Karyotype/phenotype correlation. Prenat. Diagn. 1997; 17: 201-242.
16. Kotzot D. Review and Meta-analysis of systematic searches for UPD other than UPD 15. Am J Med Genet. 2002; 111: 366-375.
17. Robinson W.P. et al. Cytogenetic and age-dependent risk factors associated with uniparental disomy 15. Prenat. Diagn. 1996; 16: 837-844.