

低血钙等,同时也会影响临床检验结果。

本研究表明,放射检查时采用造影剂会对临床检验造成一定干扰,特别是对血清中的金属元素、凝血及纤溶系统检测造成干扰。据此,笔者建议应该合理安排各种检查的时间顺序:首先安排空腹采血,然后再进行使用造影剂的各种放射学检查;或者根据造影剂在体内的代谢特点,安排患者在使用造影剂进行放射检查后 24 h,再安排静脉采血进行各项生化检查,以将造影剂对临床检验的干扰降至最低。

参考文献

[1] 蔡德山. 造影剂药物进展与市场透视[J]. 中国医药技术经济与管理,2008,2(9):16-21.

[2] 王金招. 造影剂副作用的预防及护理进展[J]. 现代护理, 2005,11(20):1894-1895.

[3] 司丹雁,吴晶莉,夏颖萍. 干扰检验结果的常见药物[J]. 中国误诊学杂志,2006,6(1):176.

[4] 邱晓青,毛艳军,赵蓉蓉. 药物对临床医学检验结果的影响分析[J]. 中国社区医师,2011,13(4):145-146.

[5] 韩莹旻,何晶. 药品说明书存在的问题探讨[J]. 中国药师,2009,12(9):1302-1303.

• 临床研究 •

[6] FDA. Guidance for Industry Warnings and Precautions, Contraindications, and Boxed Warning Sections of Labeling for Human Prescription Drug and Biological Products- Content and Format [EB/OL]. [2015-12-29]. <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/ucm075096.pdf>.

[7] FDA. Guidance for industry dosage and administration section of labeling for human prescription drug and biological products-content and format [EB/OL]. [2015-12-29]. <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/ucm075066>.

[8] FDA. Drug development and drug interactions: table of substrates, inhibitors and inducers [EB/OL]. [2015-12-29]. <http://www.fda.gov/drugs/developmentapprovalprocess/developmentresources/druginteractionslabeling/ucm093664.htm>.

(收稿日期:2016-04-17 修回日期:2016-06-23)

新疆地区 1 378 例羊水细胞培养的影响因素研究

加米拉·热扎克, 泮孜莱提·哈斯木, 夏 燕, 叶尔登切克, 段 玲[△]
(新疆医科大学第一附属医院医学遗传产前诊断中心实验室, 乌鲁木齐 830054)

摘要:目的 探讨新疆地区孕中期羊水细胞培养影响因素。方法 该实验室对 1 378 例具有产前诊断指征的孕妇行羊膜腔穿刺, 无菌操作下羊水穿刺获得孕中期羊水 14 mL, 接种 T 瓶培养 7~9 d。及时处理不合格羊水, 规范培养环境, 严格要求无菌操作。采用消化法收获细胞, 常规染色体制片后进行产前诊断, 分析核型。结果 通过消化法培养 1 378 例羊水细胞, 失败 13 例, 成功 1 365 例, 成功率 99.1%。结论 羊水细胞培养各个环节至关重要, 直接影响培养结局; 符合产前诊断适应征孕妇的异常率高于正常孕妇, 应指导其行侵入性产前诊断, 确定胎儿核型。

关键词:羊水细胞; 染色体核型; 无菌操作
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.22.034 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2016)22-3184-02

染色体异常是导致新生儿出生缺陷的重要原因之一,其发病率为 0.1%~0.2%^[1-2],符合羊膜腔穿刺产前诊断的异常率可达 3.6%^[3-4]。羊水细胞培养及其染色体制备技术是胎儿染色体病产前诊断的重要手段。由于羊水细胞培养技术要求高、羊水中活细胞少、培养周期长、易污染、分裂相少;且羊水细胞染色体在收获、低渗、固定、显带、染色等诸多环节的制备难度相对于外周血染色体更大,任何环节不合适都可能导致失败。羊水细胞培养成功是产前诊断的关键,如进行二次穿刺,可能会错过最佳穿刺孕周,对孕妇的身体及心理也会造成一定伤害^[5]。目前,羊水细胞培养技术已经推广至我国各地区,通过对羊水细胞培养的时机、取材、接种等重要环节进行改良,可缩短培养周期,获得理想细胞数量及有效核型,按期出具产前诊断报告,及时为当地孕妇妊娠提供合理指导。

1 资料与方法

1.1 一般资料 在本院经产前筛查评估结果为高风险的孕妇、高龄孕妇、夫妻患染色体病、不良孕产史,无创产前诊断高风险,或具有其他产前诊断指征的孕妇,孕周均在 18~25 周,

共 1 378 例,经知情同意后实施羊膜腔穿刺术获取羊水。

1.2 方法

1.2.1 羊水细胞的接种 无菌条件下获得羊水 14 mL 分装于 2 个无菌离心管 2 000 r/min 离心 10 min,弃上清液,留 1~3 mL 羊水与沉淀混匀,分别接种于 2 个细胞培养瓶中。加入 4 mL 左右细胞培养液,放入 37℃、二氧化碳水平为 5% 的培养箱内培养。羊水细胞培养方式包括培养瓶消化法与培养皿原位法,本中心将 2 种培养方法对比培养后,发现培养瓶消化法比培养皿原位法更容易获得数量满意的分裂相,成功率高,染色体核型显带更丰富,同时对大孕周羊水有较好的培养效果,因此决定沿用培养瓶消化法培养羊水细胞。

1.2.2 羊水细胞培养及发现污染羊水的处理 两瓶羊水细胞培养 6 d 后进行换液,原上清液合并至另 1 个新细胞培养瓶内继续培养,如前 2 瓶收获不理想,第 3 瓶在 5~7 d 内贴壁生长后继续收获,一般 7~9 d 后陆续收获。在观察收获过程中,如发现个别培养瓶受细菌污染,应及时丢弃,收获备份。如遇血性羊水、羊水杂质严重时,观察到羊水细胞贴壁后勤换液,也可

[△] 通讯作者, E-mail: duan605@126.com。

得到理想的细胞克隆数。

1.2.3 羊水细胞收获与制片 秋水仙素作用 1 h 后,胰酶消化法使羊水细胞脱落,收集至离心管内离心,常规收获后滴片、做带、染色后镜下分析。

2 结 果

采用上述方法对临床采集的 1 378 例羊水标本进行培养,2 例因血性严重、胎粪污染等情况,活细胞数目较少,收获不到处于分裂相细胞;11 例羊水因采集羊水的注射器污染;共 13 例培养失败,其余 1 365 例成功,1 次性培养成功率达到 99.1%,培养收获时间大多数为 7~9 d,每例羊水培养可获得 4~8 张染色体玻片,每片可获 20~100 个分散较好的分裂相细胞,完全满足临床诊断的要求,符合 WS 322.2—2010 中华人民共和国卫生行业标准规定观察报告标准数。1 365 例羊水解型分析发现异常 49 例,(不包括多态性核型)染色体异常率为 3.6%,与其他文献报道相近^[6],高于一般人群新生儿染色体异常的发生率(0.6%),表明按照相关规范中的诊断指征选择高危孕妇进行胎儿羊水染色体检查,可显著提高染色体异常检出率。

3 讨 论

羊水细胞主要来源于胎儿皮肤、消化道、呼吸道的脱落细胞,大部分是衰老固缩细胞,使羊水细胞培养较其他组织培养(如外周血细胞、皮肤细胞)更为困难^[7]。影响羊水细胞成功率的因素较多^[8],如何把握好影响羊水细胞培养成功率的每个步骤至关重要。

孕中期(18~24 周)的羊水中,羊水细胞量多,羊水中含有成分(如血脂)少,有利于羊水细胞贴壁成活。本中心接诊孕妇的孕周一般控制在 19 周以上,24 周以下,此时期的羊水接种后生长情况大致相同,一般不需区别对待。低于 18 周的孕妇可建议绒毛细胞培养或待时机成熟后再行羊水穿刺。大于 25 周的孕妇可建议行脐血穿刺血细胞培养染色体诊断。获取羊水细胞后,其转运和接种须严格遵守无菌规范操作,以保证羊水细胞培养的成功。实验室对羊水细胞培养所用的培养基、无菌离心管、培养瓶等材料严格要求无菌,但羊水抽取时所用的材料(如注射器)却是临床容易忽视的问题。

本研究中,有 11 例羊水细胞培养失败,未出染色体核型报告,只获得荧光原位杂交技术(FISH)报告;镜下观察羊水细胞,11 例羊水均未见贴壁细胞,细胞悬液中可见漂浮的上皮细胞及羊水细胞,各细胞形态结构完整;细胞质中可见黑色颗粒,细胞数量中等,在培养基底部可见黑色细砂状颗粒,形状不规则,逐日增多,有折光性,疑似细胞碎片;培养液清澈,无细菌污染征象。为改善细胞培养环境及备份,进行换液,抗菌药物处理后羊水细胞仍无贴壁生长迹象。此羊水标本进行一般细菌培养、支原体聚合酶链式反应(PCR)测定结果均为阴性,排除细菌及支原体等污染可能。张晶等^[9]曾报道试验材料有细胞毒性时导致细胞培养失败的因素。其同时对同一批号的注射器等试验材料进行了人精子存活试验,经过 3 d 培养后,对照管中向前活动精子比率为 92%,测试管向前活动精子比率为 0,精子存活指数均为 0,从而确定抽取羊水的注射器有细胞毒性,导致细胞培养失败。通常在行羊膜腔穿刺术时抽取羊水用普通的大容量注射器内垫片上涂有少量硅油(起润滑作用),笔者认为羊水细胞与硅油长时间接触后可能会影响羊水细胞的正常贴壁,造成培养失败,而 1 次性无菌注射器因无内置黑色胶环,可保证此环节无细胞毒性侵害羊水细胞。羊水穿刺获取羊水后,应尽快进行接种,一般控制在 1 h 内,以减小外界环境

对羊水细胞的影响。

较多文献报道了对血性羊水的处理,但都较为繁杂。笔者认为,遇少量至中量血性羊水可不作处理,常规接种。羊水细胞在数日后均可贴壁生长,周期可能较慢,待见到贴壁后积极换液,可得到较满意的细胞克隆数量。羊水细胞中有形成分较多时,可离心使细胞分层沉淀,吸取羊水细胞沉淀部分接种。进入收获期的羊水细胞需要每天进行观察,以把握最佳收获时机。通常培养 6~9 d 后,细胞进入收获期,每个培养瓶内的克隆总数为 20 个以上,克隆内有大量形态为鱼眼形透亮细胞,形态、折光度都适宜时方可收获。如羊水细胞不慎老化,可用细胞刮刀刮下细胞吸管打散后二次贴壁传代,24 h 内可收获。原代细胞和上清细胞都可传代,但随着传代次数增多,可能造成一定比例的假嵌合体^[10]。因羊水细胞贴壁生长,而本研究采用培养瓶法,在收获时可能出现染色体受到破坏,从而增加羊水解型中出现嵌合体的概率^[11]。如因污染等原因,培养 2 周以上仍无细胞生长,则传代培养意义不大,考虑第二次穿刺。

综上所述,1 例合格羊水标本是实验室做出快速准确产前诊断的前提保证,用合格的注射器及培养基、备份式羊水细胞收获及污染羊水细胞纯化等可增加羊水细胞的贴壁概率,缩短羊水细胞培养时间,提高羊水细胞培养成功率。只有获得合格的羊水细胞分裂相才能保质保量的完成产前诊断。

参考文献

- [1] Iacovella C, Contro E, Ghi T, et al. The effect of the contents of exomphalos and nuchal translucency at 11—14 weeks on the likelihood of associated chromosomal abnormality[J]. Prenat Diagn, 2012, 32(11): 1066-1070.
- [2] 孙丽娟, 王欣, 吴青青, 等. 超声检查胎儿颈项透明层厚度在筛查胎儿染色体异常中的价值[J]. 中华妇产科杂志, 2013, 48(11): 819-823.
- [3] 潘小英, 钟燕芳, 傅文婷, 等. 3 405 例产前诊断的指征及其结果评价[J]. 生殖与避孕, 2008, 28(5): 268-272.
- [4] 郭茗, 杨惠珠, 陆建英, 等. 2 679 例羊水细胞培养及染色体核型结果分析[J]. 中国优生与遗传杂志, 2008, 16(2): 44-45.
- [5] 何日尚, 卢桂英, 黄永华, 等. 抽取羊水进行产前诊断孕妇的心理问题分析[J]. 护理实践与研究, 2007, 4(10): 83-84.
- [6] 崔向英, 林宝宁. 5 000 例新生儿脐带血染色体核型分析[J]. 中国优生与遗传杂志, 2007, 15(5): 49.
- [7] 许由恩. 遗传病的产前诊断与优生[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1985: 96-97.
- [8] 刘晓望, 肖晓素, 樊尚荣, 等. 羊水细胞染色体制备方法的研究[J]. 中国妇产科临床杂志, 2004, 5(4): 296.
- [9] 张晶, 李卫凯, 谢志威, 等. 探讨提高羊水细胞培养成功率的方法[J]. 中国优生优育, 2010, 16(1): 60-61.
- [10] 张海燕, 郑陈光, 杜娟, 等. 广西地区产前诊断 359 例羊水细胞染色体异常核型分析[J]. 中国优生与遗传杂志, 2011, 19(8): 28-29.
- [11] 苏文, 崔妮, 潘丽, 等. 羊水检查疑似染色体嵌合体的处理及妊娠结局[J]. 中华医学遗传学杂志, 2012, 8, 29(4): 494-495.