

感染特征和耐药性分析[J]. 中国全科医学, 2011, 14(6): 645-647.

[7] Rosenthal VD, Maki DG, Salomao R, et al. Device-associated nosocomial infections in 55 intensive care units of 8 developing countries[J]. Ann Intern Med, 2006, 145(8): 582-591.

[8] 郭仲辉, 黎毓光, 卓超. 抗生素压力下铜绿假单胞菌耐药机制变化的动态研究[J]. 中国抗生素杂志, 2010, 35(9): 715-720.

[9] Zavascki AP, Carvalhaes CG, Picão RC, et al. Multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*: resistance mechanisms and implications for therapy[J]. Expert Rev Anti Infect Ther, 2010, 8(1): 71-93.

• 经验交流 •

316例MDS患者CD34抗原表达与骨髓形态学同步检测结果对比分析

邢江涛¹, 陶朝欣¹, 张玉娜¹, 周敬华¹, 柳江超¹, 朱芸^{2△}

(1. 河北医科大学附属平安医院检验科, 河北石家庄 050021;
2. 河北医科大学第二医院检验科, 河北石家庄 050000)

摘要:目的 探讨CD34抗原检测应用于骨髓增生异常综合征(MDS)患者的诊断及疗效观察。方法 对316例MDS患者检测骨髓形态学的同时,利用流式细胞仪同步检测CD34抗原。结果 在MDS各亚型中CD34阳性细胞与骨髓形态学原始细胞数比较差异无统计学意义($P>0.05$)。以骨髓形态学检测结果为标准,CD34抗原检测结果与其相同者为符合,316例患者中,CD34抗原检测有244例与骨髓形态学检测结果符合,总符合率77.21%。结论 CD34抗原检测应用于MDS患者的诊断及疗效观察,是对骨髓形态学检测的补充,使MDS患者的诊断结果更准确可靠。

关键词:骨髓增生异常综合征; 流式细胞仪; CD34抗原; 骨髓形态学

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2014.19.046

文献标识码:B

文章编号: 1673-4130(2014)19-2676-03

骨髓增生异常综合征(myelodysplastic syndrome, MDS)表现为血细胞减少。外周血和骨髓中原始细胞数,以及病态造血现象是MDS分型的重要参考指标,根据原始细胞数的多少分为低危型MDS及高危型MDS。近年来,免疫分型技术广泛应用于血液病诊断、治疗与疗效观察。CD34是临床应用较多的一种抗原^[1-4],越是早期的造血细胞,CD34分化抗原表达越高。CD34抗原在MDS各亚型诊断及观察疾病的进展中起着重要作用,是对形态学分型的补充。本院对MDS患者进行骨髓形态学检查的同时,利用流式细胞仪同步检测CD34抗原,使MDS患者的诊断结果更加准确可靠,对MDS的治疗及预后判断具有指导意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择本院2006年1月至2012年12月住院及门诊的MDS患者316例,男性195例,女性121例;年龄6~87岁,平均(45.85±15.08)岁。其中,难治性贫血(RA)119例,难治性贫血伴环形铁粒幼细胞(RAS)9例,难治性血细胞减少伴有多系发育异常(RCMD)75例,难治性血细胞减少伴多系发育异常和环形铁粒幼细胞(RCMD-RS)5例,难治性贫血伴原始细胞过多-I(RAEB-I)63例,难治性贫血伴原始细胞过多-II(RAEB-II)33例,急性髓系白血病(AML)12例。12例AML患者中,7例为急性粒细胞白血病部分分化型(AML-M2),1例为急性粒细胞单核细胞白血病(AML-M4),3例为急性单核细胞白血病(AML-M5),1例为红白血病(AML-M6)。

1.2 仪器与试剂 Epics XL流式细胞仪为美国贝克曼公司产品,PE标记的鼠抗人CD34单抗购自美国贝克曼公司。

[10] 冯莉,黎彧利,李坚. 195株铜绿假单胞菌的临床分布及耐药性分析[J]. 国际检验医学杂志, 2012, 33(10): 1213-1214.

[11] 刘京平,孙恒彪,刘鹏飞,等. 2010~2012年553株铜绿假单胞菌感染分布及耐药性分析[J]. 国际检验医学杂志, 2013, 34(8): 979-980.

[12] Aloush V, Navon-Venezia S, Seigman-Igra Y, et al. Multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: risk factors and clinical impact [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2006, 50(1): 43-48.

(收稿日期:2014-01-08)

1.3 方法

1.3.1 白细胞悬液制备 抽取乙二胺四乙酸(EDTA)抗凝的骨髓液2mL,用磷酸盐缓冲液(PBS)调整细胞浓度至每升悬液(4~10)×10⁹个白细胞,标记2个试管,一管加入CD45-PC5/IgG(对照管),另一管加入CD45-PC5/CD34-PE(CD45加入5μL,CD34加入10μL)。每管加入稀释后骨髓液50μL,室温避光30min,加入Optilyse C溶血素500μL,37℃水浴8min,透亮后加入500μL PBS上机检测。

1.3.2 骨髓及外周血细胞形态学观察 骨髓涂片、外周血涂片经瑞-吉染色后,在光学显微镜下,骨髓涂片计数200个有核细胞,观察各系血细胞形态学改变,计数全片巨核细胞总数,并对巨核细胞进行分类,求各型巨核细胞的百分率。血涂片计数100个白细胞,并观察血细胞形态学改变。

1.3.3 组织细胞化学染色 选择骨髓小粒丰富的骨髓涂片,进行铁染色,观察骨髓中细胞内铁及细胞外铁的水平。细胞内铁检测:用油镜计数100个中晚期幼红细胞,计算细胞质中含有蓝色颗粒的铁粒幼细胞的百分率,并计数有无环形铁粒幼细胞(围绕细胞核1/2以上的区域有铁粒环绕),环形铁粒幼细胞大于15%为阳性标准。细胞外铁检测:观察细胞外铁在骨髓中的分布情况。

1.4 统计学处理 采用SPSS13.0统计软件进行统计学分析,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较采用t检验;计数资料以百分率表示。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 外周血细胞检测结果 (1)血红蛋白:正常26例(110~148g/L),占8.23%;轻度贫血31例(90~108g/L),占

9.81%; 中度贫血 97 例(60~89 g/L), 占 30.70%; 重度贫血 162 例(29~58 g/L), 占 51.27%。(2)白细胞: 正常 47 例[(4~10) $\times 10^9$ L $^{-1}$], 占 14.87%; 降低 264 例[(0.14~3.95) $\times 10^9$ L $^{-1}$], 占 83.54%; 增高 5 例[(14.66~62.86) $\times 10^9$ L $^{-1}$], 占 1.58%。(3)血小板: 正常 67 例[(100~291) $\times 10^9$ L $^{-1}$], 占 21.20%; 降低 239 例[(1~98) $\times 10^9$ L $^{-1}$], 占 75.63%; 增高 10 例[(316~453) $\times 10^9$ L $^{-1}$], 占 3.16%。(4)外周血涂片: 77 例可见原始细胞。

2.2 骨髓细胞形态学检测结果 有核细胞增生程度: 极度活跃 21 例(6.65%), 明显活跃 128 例(40.51%), 增生活跃 120 例(37.97%), 降低 47 例(14.87%)。粒系病态造血: 较多见部分粒细胞的颗粒增多、减少或缺失, 其次是中晚期粒细胞的巨

变, 以巨杆状、巨分叶粒细胞多见, 并可见双核粒细胞以及假性 Pelger-Huet 核型异常。红系病态造血: 常见幼红细胞的巨变, 以中晚期幼红细胞多见, 其次是双核、多核、畸形核幼红细胞, 另外, 还可见核出芽、核碎裂、核间桥等现象。巨核细胞病态造血: 表现为小巨核细胞、单圆核巨核细胞、多圆核巨核细胞和巨大多分叶核巨核细胞较常见。

2.3 细胞化学染色结果 细胞内铁: 34%~92%, 有 14 例环形铁粒幼细胞大于 15%。

2.4 流式细胞仪检测结果 在 MDS 各亚型中 CD34 阳性细胞与骨髓形态学原始细胞数比较差异无统计学意义($P > 0.05$), 见表 1。

表 1 流式细胞仪检测结果(%, $\bar{x} \pm s$)

检测项目	RA 或 RAS (n=128)	RCMD 或 RCMD-RS (n=80)	RAEB-I (n=63)	RAEB-II (n=33)	AML (n=12)
骨髓形态学原始细胞	1.90 \pm 1.31	1.94 \pm 1.29	6.00 \pm 1.62	11.60 \pm 4.14	27.78 \pm 11.65
流式细胞仪检测 CD34 阳性细胞	1.96 \pm 1.47	1.91 \pm 2.0	5.10 \pm 4.20	11.00 \pm 6.07	26.30 \pm 4.79
<i>t</i>	0.66	0.64	0.99	0.81	0.86
<i>P</i>	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05

2.5 两种检测方法符合率比较结果 以骨髓形态学检测结果为标准, CD34 抗原检测结果与其相同者为符合, 316 例患者中, CD34 抗原检测有 244 例与骨髓形态学检测结果符合, 总符合率 77.21%。

3 讨 论

MDS 是造血干细胞克隆性疾病, 由于血细胞生成有质和量的改变, 使疾病不断演化进展, 有的最终转化为 AML^[5~6]。流式细胞术免疫表型检测应用于 MDS 患者, 根据 CD34 阳性细胞率, 协助 MDS 患者进行分型与诊断^[7]。随着 MDS 患者病情的进展, 低危型 MDS 向高危型 MDS 转化过程中, 骨髓中原始细胞逐渐增多, CD34 阳性细胞率进行性增高, CD34 阳性细胞表达水平与疾病进展明显相关, 与骨髓形态学原始细胞数呈正比。

本院在日常工作中对 MDS 患者检查骨髓形态学同时, 利用流式细胞仪同步检测 CD34 抗原, 检测结果与文献[8~9]报道相符。以骨髓形态学检测结果为标准, CD34 检测结果与其相同者为符合, 316 例患者中, CD34 检测结果有 244 例与骨髓形态学检测结果符合, 符合率为 77.21%。万岁桂等^[3]检测了 88 例 MDS 患者的标本, CD34 检测结果与骨髓形态学检测结果符合率为 80.7%, 与本研究相似。

2 种检测方法会也出现部分不一致的情况, 分析其原因, 流式细胞仪检测时: (1)骨髓液抽取过量、抽取的标本有凝块、细胞标记过程中单个核细胞的丢失都可造成标本稀释; (2)个别患者原始细胞 CD34 有不表达现象。因此, 利用流式细胞仪检测 CD34 抗原, 在各个环节中均要对仪器设备进行严格的质量控制, 试验前将仪器调整到最佳检测状态, 针对不同的细胞群体进行合理的设门分析, 是获取准确结果的必要前提。各种检测手段都存在不同程度影响因素, 多种检测方法会减少单一检测方法造成的误差。

骨髓形态学检测是 MDS 患者必不可少的重要检查手段之一^[10~14]。免疫分型技术可以准确地区分原始细胞的来源及

分化阶段, CD34 是一种阶段性特异性抗原, CD34 抗原阳性, 提示原始细胞受阻于细胞增殖周期的较早分化阶段。CD34 抗原检测在观察 MDS 疾病进展中起着重要作用, 是 MDS 治疗和预后判断不可缺少的指标。

参考文献

- 李丽娟, 付蓉, 王化泉, 等. 骨髓增生异常综合征患者骨 CD34⁺ 细胞亚群及其表面造血因子受体的表达[J]. 中华医学杂志, 2011, 91(4): 234~238.
- 孙嘉峰, 杨波, 张丽, 等. 流式细胞术分析骨髓增生异常综合征患者原始细胞免疫表型特点及其在诊断中的意义[J]. 中国实验血液学杂志, 2012, 20(3): 632~635.
- 万岁桂, 赵弘, 徐娟, 等. 流式细胞术 CD34⁺ 细胞计数在骨髓增生异常综合征分型诊断中的作用[J]. 标记免疫分析与临床, 2011, 18(5): 308~311.
- Schlegelberge B, Göhring G, Thol F, et al. Update on cytogenetic and molecular changes in myelodysplastic syndromes (MDS) [J]. Leuk Lymphoma, 2011, 53(4): 525~536.
- Garcia-Manero G. Myelodysplastic syndromes: 2012 update on diagnosis, risk-stratification, and management [J]. Am J Hematol, 2012, 87(7): 692~701.
- Della Porta MG, Malcovati L, Strupp C, et al. Risk stratification based on both disease status and extra-hematologic comorbidities in patients with myelodysplastic syndrome [J]. Haematologica, 2011, 96(3): 441~449.
- Rashidi HH, Xu X, Wang HY, et al. Utility of peripheral blood flowcytometry in differentiating low grade versus high grade myelodysplastic syndromes (MDS) and in the evaluation of cytopenias [J]. Int J Clin Exp Pathol, 2012, 5(3): 224~230.
- 孙福英, 金洁萍, 毛淑丹. 低危骨髓增生异常综合征免疫表型分析[J]. 山东医药, 2011, 51(33): 4~6.
- 丁凯阳, 姬文灿, 朱微波, 等. 骨髓增生异常综合征 99 例临床分析[J]. 中国实用内科杂志, 2011(3): 208~210.
- Cazzola M, Malcovati L. Prognostic classification and risk assess-

ment in myelodysplastic syndromes[J]. Hematol Oncol Clin North Am, 2010, 24(2):459-468.

[11] Colovic M, Suvajdzic N, Jankovic G, et al. Therapy-related myelodysplastic syndrome and acute myeloid leukemia in patients with chronic lymphocytic leukemia treated with fludarabine and cyclophosphamide[J]. Biomed Pharmacother, 2011, 65(5):319-321.

[12] 邢立娟,杨娜,袁慧云. MRP 在急性白血病及 MDS 患者骨髓涂片中的表达及预后分析[J]. 中国误诊学杂志, 2010, 10(19):4603.

• 经验交流 •

重症监护病房多重耐药菌菌群分析及预防对策

李 伟, 莫芳贵, 周美容, 张肆鹏

(深圳市龙华新区中心医院检验科, 广东深圳 518110)

摘要:目的 分析重症监护室(ICU)多重耐药菌分布和耐药情况。方法 收集 2011 年 1 月至 2012 年 12 月深圳市龙华新区中心医院 ICU 患者的血液、尿液、痰液等不同标本 2 260 例, 采用法国生物梅里埃公司生产的 Vitek 2 Compact 全自动细菌鉴定仪对分离细菌进行鉴定及药物敏感试验。结果 共分离出多重耐药菌 577 株, 阳性率 25.5%。在分离的多重耐药菌中, 以革兰阴性杆菌为主(占 68.5%), 其中, 铜绿假单胞菌占 18.0%, 肺炎克雷伯菌占 16.5%, 大肠埃希菌占 13.5%, 鲍曼不动杆菌占 10.2%; 在分离的多重耐药菌中, 革兰阳性球菌占 31.5%, 其中, 金黄色葡萄球菌占 14.4%。多重耐药菌对临床常用抗菌药物均呈不同程度耐药, 治疗十分困难。结论 多重耐药菌是 ICU 患者感染的重要病原菌, 加强多重耐药菌的监测、合理使用抗菌药物是预防多重耐药菌出现及传播的重要措施。

关键词:重症监护室; 多重耐药菌; 预防

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.19.047

文献标识码:B

文章编号:1673-4130(2014)19-2678-02

重症监护室(ICU)是医院危重症患者集中的科室, ICU 患者免疫力普遍较低, 故常发生严重感染^[1]。同时由于抗菌药物广泛应用导致的选择性压力和隔离措施不当导致的交叉感染使多重耐药菌株不断增加, 多重耐药菌逐渐成为 ICU 患者感染的重要病原菌且易造成暴发流行。因此, 通过对 ICU 多重耐药菌群分析, 探讨多重耐药菌的预防控制策略有重要意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2011 年 1 月至 2012 年 12 月本院 ICU 患者的血液、尿液、痰液等不同标本 2 260 例, 进行病原菌分离培养, 共分离培养出多重耐药菌 577 株。

1.2 仪器与试剂 细菌鉴定及药物敏感试验采用法国生物梅里埃公司生产的鉴定卡及药敏卡, 仪器采用法国生物梅里埃公司生产的 Vitek 2 Compact 全自动细菌鉴定仪。质控菌株为大肠埃希菌 ATCC25922、铜绿假单胞菌 ATCC27853、金黄色葡萄球菌 ATCC25923, 质控菌株购自广东省临床检验中心。

1.3 方法 对 2 260 例标本进行细菌分离培养, 并对分离病原菌进行鉴定及药物敏感试验。

1.4 统计学处理 采用 WHONET5.4 软件对数据进行处理, 分析病原菌分布及其耐药性。

2 结 果

2.1 多重耐药菌检出率 2 260 例标本共分离出病原菌 768 株, 其中多重耐药菌 577 株, 阳性率 25.5%(577/2 260)。在分离的多重耐药菌中, 以革兰阴性杆菌为主(占 68.5%), 其中铜绿假单胞菌占 18.0%, 肺炎克雷伯菌占 16.5%, 大肠埃希菌占 13.5%, 鲍曼不动杆菌占 10.2%; 在分离的多重耐药菌中, 革兰阳性球菌占 31.5%, 其中金黄色葡萄球菌 14.4%。577 株多重耐药菌的构成比见表 1。

2.2 多重耐药菌来源标本分布 42.3% 的多重耐药菌来自痰液, 24.6% 的多重耐药菌来自尿液, 8.9% 的多重耐药菌来自脓

[13] 王睿婕, 许洪志, 黄敏, 等. MDS、AA 和 AL 患者骨髓细胞周期及增殖特征的研究[J]. 山东大学学报: 医学版, 2011, 49(2): 97-101.

[14] 冯宝章, 郝玉书. MDS 骨髓细胞癌变的主要机制[J]. 白血病·淋巴瘤, 2006, 15(2): 148-150.

(收稿日期:2014-06-13)

液。分离自痰液标本的菌株以鲍曼不动杆菌、铜绿假单胞菌、肺炎克雷伯菌、金黄色葡萄球菌多见; 尿液标本以大肠埃希菌、肠球菌多见。

表 1 577 株多重耐药菌构成比(%)

细菌	菌株数(n)	构成比(%)
革兰阴性杆菌	395	68.5
铜绿假单胞菌	104	18.0
肺炎克雷伯菌	95	16.5
大肠埃希菌	78	13.5
鲍曼不动杆菌	59	10.2
阴沟肠杆菌	26	4.5
其他	33	5.7
革兰阳性球菌	182	31.5
金黄色葡萄球菌	83	14.4
表皮葡萄球菌	48	8.3
粪肠球菌	23	4.0
屎肠球菌	9	1.6
其他	19	3.3

2.3 多重耐药菌的耐药率 多重耐药革兰阴性杆菌的耐药率见表 2, 多重耐药革兰阳性球菌的耐药率见表 3。

表 2 多重耐药革兰阴性杆菌的耐药率(%)

抗菌药物	铜绿假单胞菌	肺炎克雷伯菌	大肠埃希菌	鲍曼不动杆菌	阴沟肠杆菌
头孢唑啉	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
氨苄西林	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
复方磺胺甲噁唑	100.0	42.9	69.6	31.8	71.5