

3 讨 论

奴卡菌属为革兰阳性需氧性放线菌,细菌壁含分枝菌酸。主要通过呼吸道及皮肤创伤感染人体。可引起肺、脑等组织化脓感染,感染的组织及脓液内可有“硫磺样颗粒”。其较易感染免疫力低下、免疫缺陷、长期应用皮质激素和免疫抑制剂以及糖尿病等患者^[5-6]。

诺卡菌属为临床不常见病原菌,感染症状无特异性,且生长缓慢,不易分离鉴定,极易漏诊、误诊。传统实验室主要根据其革兰染色阳性呈分枝状、抗酸染色弱阴性及生化反应鉴定。分子生物学方法可以快速准确地诊断诺卡菌,主要包括 PCR 直接测序法、随机扩增多态性 DNA、脉冲长凝胶电泳、PCR-限制片段长度多态性、核酸探针、实时荧光定量 PCR 等方法^[7]。而临床实验室条件有限时,微生物室可通过延长细菌培养时间,根据培养皿见表面有皱褶、成颗粒状的典型菌落形态;革兰染色阳性并有细长、末端不膨大菌丝^[8];改良抗酸染色(脱色剂为 1% 的硫酸水溶液)弱阳性^[9];并联合临床肺部感染及躯干及四肢有多个皮下肿物并破溃流出含黄色颗粒的脓液等症状诊断诺卡菌属。而诺卡菌属生长缓慢,24~48 h 才可见针尖样大小菌落^[10],5~7 d 可生长为肉眼可见菌落,极易漏诊、误诊。因此,诊断诺卡菌属的始动点是临床医生或者检验科人员怀疑患者为诺卡菌属感染^[11],且双方科室能够及时沟通,使双方知识交融,互相协助。

通过本例诺卡菌属的诊断,对加强临床不常见细菌的诊断提供宝贵的经验。需要临床与检验科室共同的努力:一方面,加强检验科人员业务能力和认真的工作态度,加强其对不常见细菌、临床特殊病例的认识,及时发现问题,是减少临床漏诊数量的前提;另一方面,完善临床与检验科室交流体系,在疾病诊断过程中临床与检验科共同参与,做到个体诊断,是减少漏诊和诊断时间,提高诊断质量的必要阶段。

在本病例中,检验人员对不常见细菌认真的态度是避免漏诊的始动点,参与临床会诊后检验人员根据患者特征性感染症状进一步考虑为诺卡菌属感染,从而向临床提出脓液培养的建议,在本病例中脓液较痰诺卡菌属培养生长状态好,易于指导检验科考虑诺卡菌属感染,并延长细菌培养时间,加做改良抗酸染色来鉴定病原菌。如果双方科室交流及时,在患者入院第 1 天,检验科人员告知患者四肢及躯干有多处皮下脓肿且破

• 个案与短篇 •

溃,可提前脓液培养的提检时间。

综上所述,检验科与临床的沟通在当今各专业之间知识互相渗透,相互协助的时代十分必要,提高检验在医学领域的影响力对临床诊断有重大意义,值得广大临床医生及检验人员的重视。

参考文献

- [1] 高志凌,林燕林,李远思,等.肺奴卡菌病 11 例临床分析[J].中国实用内科杂志,2013,20(7):563-564.
- [2] 杨朵,辛续丽,马东媛,等.痰培养标本合格性评估标准的比较[J].检验医学,2012,30(9):773-775.
- [3] 陈东科,孙长贵.实用临床微生物学检验与图谱[M].北京:人民卫生出版社,2011:289-294.
- [4] Lai CC, Liu WL, Ko WC, et al. Multicenter study in Taiwan of the in vitro activities of nemoxacin, tigecycline, doripenem, and other antimicrobial agents against clinical isolates of various Nocardia species[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2011, 55(5): 2084-2091.
- [5] Berring DC, Nygaard U. Lung cavities caused by Nocardia cyriacigeorgica in an immunosuppressed boy[J]. Ugeskr Laeger, 2014, 176(40):105-106.
- [6] Jorna T, Taylor J. Disseminated Nocardia infection in a renal transplant patient: the pitfalls of diagnosis and management[J]. BMJ Case Rep, 2013, 20(13):206-207.
- [7] 张媛,张媛媛,李振军,等.诺卡氏菌研究进展[J].中国人兽共患病学报,2012,20(6):628-634.
- [8] 潘玲,詹庆元,童朝辉.诺卡菌肺部感染 1 例[J].中国感染与化疗杂志,2010,22(3):226-227.
- [9] 张媛,张媛媛,万康林,等.诺卡菌的培养和染色特征研究[J].中国人兽共患病学报,2012,20(3):230-236.
- [10] 宋秀杰,路聪哲,顾珏,等.84 例肺奴卡菌病文献回顾性分析 1979-2011[J].临床肺科杂志,2013,12(1):2280-2282.
- [11] Brown-Elliott BA, Brown JM, Conville PS, et al. Clinical and laboratory features of the Nocardia spp. based on current molecular taxonomy[J]. Clin Microbiol Rev, 2006, 19(2):259-282.

(收稿日期:2015-02-26)

EDTA 和枸橼酸钠抗凝同时依赖的假性血小板减少症 1 例

方炳雄¹,蔡勉珊²

(普宁市人民医院:1. 检验科;2. 儿科,广东普宁 515300)

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.12.077

文献标识码:C

文章编号:1673-4130(2015)12-1800-02

伴随着全自动血细胞分析仪的普及使用,抗凝剂乙二胺四乙酸(EDTA)盐广泛应用于血细胞的分析检测。EDTA 依赖性假性血小板减少症(EDTA-PTCP)是指全血加入 EDTA 抗凝后,细胞分析仪检测血小板(PLT)数量时,出现假性减少的现象,容易导致误诊、误治。近年来国内外关于抗凝剂引起血小板假性减少的报道增多,已引起广泛关注,笔者对 1 例 EDTA 和枸橼酸钠抗凝同时依赖的假性血小板减少症患者进行分析,现报道如下。

1 临床资料

患者,男,47 岁,2014 年 2 月 22 日因“腹痛 1 月余,加重 1

d”收入消化内科治疗,胃镜检查示胃浅表溃疡。积极给予制酸、护胃、补液及对症治疗 4 d,腹痛改善,因 PLT 减少($35 \times 10^9/L$),原因未明,转入血液内科住院。完善相关检查,血常规提示:白细胞(WBC)计数为 $6.74 \times 10^9/L$ [参考范围:($3.5 \sim 9.5$) $\times 10^9/L$],PLT 计数为 $41 \times 10^9/L$ [参考范围($125 \sim 350$) $\times 10^9/L$]。血清免疫球蛋白水平正常,肝、肾功能正常,凝血功能正常,该患者无出血,无糖尿病家族史,初步以血小板减少症治疗,给予糖皮质激素、丙种球蛋白治疗。2 月 25 日,复查血常规结果:WBC $8.79 \times 10^9/L$,PLT $43 \times 10^9/L$ 。2 月 28 日,血常规结果:WBC $8.35 \times 10^9/L$,PLT $42 \times 10^9/L$ 。骨(下转封 3)

(上接第 1800 页)

髓细胞学检测提示:增生活跃骨髓象,全片分类 25 个巨核细胞,颗粒巨核细胞 20 个,产板型巨核细胞 2 个,PLT 呈散在分布;外周血涂片示 PLT 呈小簇及簇状分布。医院不同科室会诊,拟诊为 EDTA-PTCP。

经患者同意,3 月 2 日使用不同方法复查血常规,分别采用乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K₂)、枸橼酸钠抗凝和不加抗凝剂稀释法检测,以及手工计数 PLT,然后在 0、10、30 min 及 1、2 h 不同时间段进行检测^[1-2]。EDTA-K₂、枸橼酸钠抗凝和不加抗凝剂稀释法检测 WBC 和 PLT 结果见表 1,对 EDTA-K₂、枸橼酸钠抗凝血涂片行瑞氏-吉萨姆染色、镜检,发现均有不同程度的 PLT 凝集现象,EDTA 抗凝血多形成超过 8 个 PLT 聚在一起的凝集簇,枸橼酸钠抗凝血多形成少于 8 个 PLT 聚在一起的凝集簇,大多 4~7 个。手工草酸胺计数 PLT 的结果为 151×10⁹/L。患者无出血症状,凝血功能正常,诊断为 EDTA-PTCP。

表 1 不同抗凝血在不同时间 WBC 及 PLT 计数(×10⁹/L)

时间	稀释法		EDTA-K ₂ 抗凝		枸橼酸钠抗凝	
	WBC	PLT	WBC	PLT	WBC	PLT
0 min	7.30	138	7.41	145	7.32	130
10 min	7.38	140	7.91	103	7.74	112
30 min	7.32	141	8.47	85	8.55	93
1 h	7.45	129	8.68	65	8.78	81
2 h	7.41	126	8.79	66	8.77	82

2 讨论

EDTA 盐抗凝剂能与血液中钙离子(Ca²⁺)结合成螯合物,使 Ca²⁺失去凝血作用,从而阻止血液凝固,被推荐作为血细胞计数的抗凝剂,目前在全世界广泛应用。国内外都陆续报道了 EDTA-PTCP 病例,其发生的原因尚未明确。有文献报道,EDTA 盐可以诱发 PLT 黏附和聚集,导致 PLT 假性减少^[3],EDTA 引起 PLT 聚集导致全自动血细胞分析仪无法辨识 PLT,基于检测原理把聚集的 PLT 误计为 WBC、红细胞(RBC),导致 PLT 假性减少,WBC 或 RBC 计数异常。本病例随着时间延长,PLT 聚集越多,计数越低,因聚集的 PLT 被仪器误计为 WBC,WBC 计数越来越高。EDTA-PTCP 的发生机制比较复杂,目前尚不清楚,多数学者认为 EDTA-PTCP 是一种自身免疫性疾病,其发生可能与血浆中的抗 PLT 抗体和抗心磷脂抗体等自身抗体,以及 PLT 表面存在的某种隐性抗原有关。研究发现,EDTA-PTCP 患者的血清免疫球蛋白有较高比例升高,且抗血小板自身抗体和抗心磷脂抗体呈阳性,将患者血浆与健康人 PLT 一起孵育能引起健康人血小板聚集,

反而健康人血浆无法引起该类患者 PLT 聚集^[4]。研究还发现,EDTA-PTCP 患者的血小板膜糖蛋白(GP)Ⅱ b/Ⅲ a 表达明显高于健康人^[5]。GPⅡ b/Ⅲ a 主要存在于静息 PLT 表面,需要在 Ca²⁺存在下保持其异二聚体结构,EDTA 螯合 Ca²⁺,导致 GPⅡ b/Ⅲ a 分子的构象发生改变,暴露出隐性抗原,与自身抗体结合,使 PLT 发生聚集。

动态观察本病例,与郭利利等^[6]研究结果一致,EDTA-PTCP 患者采血后立即检测 PLT 尚未发生聚集,10 min 后随时间延长聚集越明显,在 30 min 左右基本达到稳定状态,PLT 基本不再减少。有文献报道,对 EDTA-PTCP 的患者可以改用枸橼酸钠抗凝剂检测血小板^[1]。但是,本病例与何海洪等^[7]报道一致,EDTA-K₂ 和枸橼酸钠抗凝剂均导致 PLT 假性减少,且枸橼酸钠抗凝的 PLT 聚集速度和涂片的凝集簇均低于 EDTA 抗凝标本。EDTA 和枸橼酸钠抗凝同时依赖的假性血小板减少症的病例较罕见,其机制尚不明确。EDTA-PTCP 无病理意义,但给临床医生提供错误的信息,造成误诊、误治。本病例采用末梢血稀释法检测 PLT,并未发现 PLT 假性减少,且与手工草酸胺计数法结果相近。本病例提示,可以考虑采用末梢血稀释法和手工草酸胺计数法组合检验法,检查对 EDTA 和枸橼酸钠抗凝同时依赖的假性血小板减少症的病例。而对于本病例 EDTA 和枸橼酸钠抗凝同时引起 PLT 减少的发生机制有待明确。

参考文献

- [1] 刘学斌,邹雪松,黄冬梅,等.两种抗凝剂对血小板的影响因素临床分析[J].河北医学,2013,19(10):1595-1597.
- [2] 邵永生,郑宏伟.组合检验法在 EDTA 依赖性假性血小板减少症中的应用[J].国际检验医学杂志,2012,33(16):2036-2037.
- [3] Wu W,Guo Y,Zhang L,et al. Clinical utility of automated platelet clump count in the screening for ethylene diamine tetraacetic acid-dependent pseudothrombocytopenia[J]. Chin Med J (Engl), 2011, 124(20):3353-3357.
- [4] 欧洋华,江咏梅,张鸽.乙二胺四乙酸依赖性假性血小板减少症发病机制的研究进展[J].医学综述,2014,20(11):1942-1944.
- [5] Chae H,Kim M,Lim J,et al. Novel method to dissociate platelet clumps in EDTA-dependent pseudothrombocytopenia based on the pathophysiological mechanism[J]. Clin Chem Lab Med, 2012, 50(8):1387-1391.
- [6] 郭利利,顾平,张葵.10 例 EDTA 依赖性假性血小板减少症血小板检测的动态分析[J].临床输血与检验,2012,14(3):212-214.
- [7] 何海洪,陈艳清,贾建,等.枸橼酸钠和 EDTA 抗凝同时依赖的假性血小板减少症 1 例[J].广东医学,2013,34(23):3546.

(收稿日期:2015-01-08)

(上接第 1795 页)

工作的重要环节之一。(1)坚持安装验收制:验收人员必须严格依据有关标准及购货合同对购入产品进行验收,并且要有记录,在医疗器械入库凭证上签章。(2)坚持标准操作程序。根据临床实验室操作规程编写仪器 SOP 文件并严格执行。(3)做好维修管理。设备的可修性、易修性如何,备件消耗有无保证,使用、维修资料和工具是否齐全等,都是选购设备时必须认真考虑的^[5]。

通过此次建设二级医院临床实验室的设备采购,本人体会在设备购置前要认真做好调研,了解本院检验科与二级医院临床实验室仪器设备配制的差距,充分调动科室全体成员的积极性,选择适合科室发展及满足二级医院需求的仪器设备。设计科学严谨的采购流程,层层把关,通过价格谈判,认真制作标书等,就能买到既能满足科室需求又能最大限度降低采购成本

的仪器设备。

参考文献

- [1] 刘小玲.二级医院规范检验诊断试剂采购的体会[J].医学信息, 2008,20(1):21-25.
- [2] 向前忠.低成本缓解看病贵的难题[J].中国卫生产业,2007,30(3):67-69.
- [3] 金永红.县以上医院必须集中采购医用设备[J].中国社区医师:综合版,2006,8(15):33.
- [4] 甘向前,高水忠.推行物资集中采购降低成本缓解看病贵的难题[J].中国卫生产业,2007,20(3):67-69.
- [5] 杨红.检验仪器设备的科学管理[J].现代测量与实验室管理, 2008,20(4):24-25.

(收稿日期:2015-03-22)