

• 案例分析 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2020.20.052

EDTA-K<sub>2</sub> 抗凝外周血白细胞聚集 3 例

白志瑶,包艳,耿娅萍,尹春琼

云南省曲靖市第二人民医院检验科,云南曲靖 655000

关键词:乙二胺四乙酸二钾; 白细胞聚集; 恶性肿瘤

中图分类号:R446.11+1

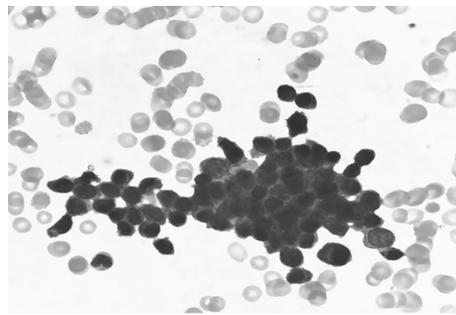
文献标志码:C

文章编号:1672-9455(2020)20-3069-03

乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K<sub>2</sub>)抗凝剂是国际血液学标准化委员会(ICSH)推荐的血细胞计数抗凝剂,在世界各地广泛应用。EDTA-K<sub>2</sub>抗凝剂偶尔可诱导血小板发生聚集,致血细胞分析仪血小板计数(PLT)假性减少和白细胞计数(WBC)假性升高,即 EDTA 依赖性假性血小板减少症(EDTA-PTCP)<sup>[1]</sup>。目前该现象已被大家熟知。然而,关于 EDTA 诱导的白细胞聚集引起的假性白细胞减少现象却少有报道。目前,国内外已有相关个案报道<sup>[2-3]</sup>,陈龙等<sup>[4]</sup>报道其发生率为 0.002%,极易漏诊,给临床工作带来极大的困扰。本院 2017 年 10 月至 2019 年 11 月共发现 3 例,现报道如下。

## 1 临床资料

**1.1 病例 1** 患者,男,65 岁,2017 年 10 月 11 日无明显诱因出现恶心、干呕及黑便,入住消化内科诊断为肾功能不全、十二指肠球部溃疡并出血、中度贫血等。转入肾内科治疗好转后出院。2017 年 12 月 22 日再次因恶心、干呕及黑便入住肾内科。患者自入院以来,尿量约 400 mL/d,体质量减轻 5 kg,于 2018 年 1 月 9 日病情迅速恶化转入重症监护室(ICU),2018 年 1 月 10 日在回家途中死亡。体格检查:体温 36.8℃,脉搏 70 次/分,呼吸 20 次/分,血压 120/80 mm Hg。实验室检查:红细胞计数(RBC)1.34×10<sup>12</sup>/L,血红蛋白(Hb)45 g/L,血细胞比容(HCT)13.6%,WBC 6.92×10<sup>9</sup>/L,中性粒细胞比例 71%,中性粒细胞绝对值 4.91×10<sup>9</sup>/L,单核细胞比例 24.1%,单核细胞绝对值 1.66×10<sup>9</sup>/L,PLT 205×10<sup>9</sup>/L。超敏 C 反应蛋白 18.5 mg/L,补体 C3 0.83 g/L,补体 C4 0.24 g/L,降钙素原 0.33 mg/L,甲、乙、丙型肝炎病毒,抗核抗体谱,类风湿关节炎抗体谱,支原体,衣原体等检测均为阴性。因对该患者进行死亡病例讨论时才发现白细胞聚集,故未对白细胞进行手工计数和预稀释模式计数校正。血涂片发现大量成团、成堆的浆细胞聚集,见图 1。2018 年 1 月 15 日外周血流式细胞免疫分型结果:异常细胞群体约占核细胞的 21%,表达 CD38、Kappa。结论:可见异常细胞群,考虑浆细胞来源。

图 1 EDTA-K<sub>2</sub> 抗凝外周血中成片聚集的浆细胞(×100)

**1.2 病例 2** 患者,男,77 岁,既往因“右舌根部弥漫大 B 细胞淋巴瘤 3 年”行 20 次放疗及 6 次化疗好转后出院。2017 年 3 月 2 日早上 7:00 左右患者突然出现右侧胸痛,行床旁 18 导联心电图提示右心室心肌梗死。既往史:脑梗死病史 20 余年,高血压病史 30 余年,糖尿病病史 30 余年,阑尾切除手术史 40 年。体格检查:体温 36.0℃,脉搏 84 次/分,呼吸 22 次/分,血压 110/80 mm Hg。实验室检查:RBC 3.88×10<sup>12</sup>/L, Hb 121 g/L, HCT 39.2%, WBC 6.81×10<sup>9</sup>/L,中性粒细胞比例 85.6%,中性粒细胞绝对值 5.83×10<sup>9</sup>/L,单核细胞比例 10.8%,单核细胞绝对值 0.68×10<sup>9</sup>/L,PLT 129×10<sup>9</sup>/L。超敏 C 反应蛋白 2.5 mg/L,补体 C3 1.21 g/L,补体 C4 0.18 g/L,降钙素原 0.05 mg/L,甲、乙、丙型肝炎病毒,抗核抗体谱,类风湿关节炎抗体谱,支原体,衣原体等检测均为阴性。白细胞手工计数法:7.80×10<sup>9</sup>/L,血细胞分析仪预稀释模式计数:7.68×10<sup>9</sup>/L。血涂片见大量聚集的中性粒细胞,见图 2。

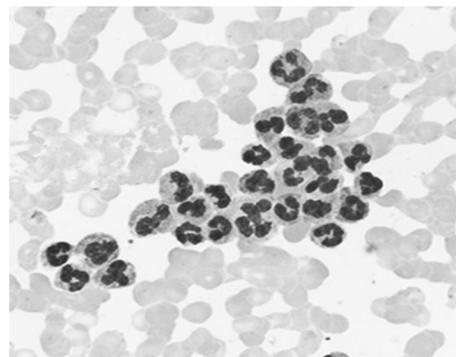


图 2 成堆聚集的中性粒细胞(×100)

**1.3 病例 3** 患者,女,82 岁,于 2019 年 11 月 8 日以前“右半结肠癌并颅内、全身多处转移”收入院。既往患高血压 10 余年,10 年前行甲状腺切除术,3 年前行乙状结肠癌切除术。体格检查:体温 36.7℃,脉搏 89 次/分,呼吸 21 次/分,血压 140/88 mm Hg。实验室检查:RBC  $3.39 \times 10^{12}/L$ ,Hb 107 g/L,WBC  $4.48 \times 10^9/L$ ,中性粒细胞比例 39.1%,中性粒细胞绝对值  $1.75 \times 10^9/L$ ,单核细胞比例 23.7%,单核细胞绝对值  $1.06 \times 10^9/L$ ,PLT  $146 \times 10^9/L$ 。超敏 C 反应蛋白 6.4 mg/L,补体 C3 0.98 g/L,补体 C4 0.21 g/L,降钙素原 0.05 mg/L,甲、乙、丙型肝炎病毒,抗核抗体谱,类风湿关节炎抗体谱,支原体,衣原体等检测均为阴性。白细胞手工计数法: $5.50 \times 10^9/L$ ,血细胞分析仪预稀释模式计数: $5.33 \times 10^9/L$ 。血涂片观察到大量聚集的中性粒细胞、淋巴细胞及单核细胞,见图 3。

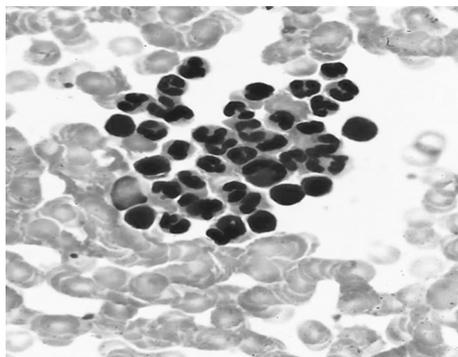


图 3 聚集的中性粒细胞、淋巴细胞及单核细胞( $\times 100$ )

## 2 讨 论

外周血白细胞聚集是一种罕见的现象,根据细胞聚集类型可以分为中性粒细胞聚集、淋巴细胞聚集、混合细胞聚集等。但关于白细胞聚集和疾病的相关性尚未完全明确,杨大千等<sup>[5]</sup>报道其可能与恶性肿瘤、感染、肝病及自身免疫性疾病等有关,而关于 EDTA 依赖性白细胞聚集的机制尚未明确,EDTA-K<sub>2</sub> 抗凝血发生白细胞聚集的可能原因:(1) 隐性抗原和特异性 IgM 抗体的出现可能导致 EDTA 诱导细胞膜构象变化,使白细胞相互聚集;(2) EDTA-K<sub>2</sub> 与血液中的钙离子结合形成螯合物,细胞内钙离子水平发生变化从而导致白细胞变形、聚集;(3) 致病因素、药物作用、阳离子抗凝剂等可导致白细胞间负离子减少,相互排斥力降低,使距离缩短从而聚集在一起。本研究病例 1 因发现 EDTA-K<sub>2</sub> 抗凝血涂片白细胞聚集时患者已死亡,因而未进行白细胞手工计数校正,后经流式细胞免疫分型确定该类细胞为浆细胞来源,据此判断该患者为原发性浆细胞白血病(PPCL)。PPCL 发病率极低,多为个案报道,该病进展迅速,预后差,中位生存期不足 1 年<sup>[6]</sup>,不少患者在诊断 1 个月内即死亡,本研究中病例 1 生存期仅为 4 个月。病例 2 发现

EDTA-K<sub>2</sub> 抗凝血涂片大量中性粒细胞聚集时,病例 3 发现 EDTA-K<sub>2</sub> 抗凝血涂片中性粒细胞、淋巴细胞、单核细胞聚集时,检验科即刻对 2 位患者进行末梢血涂片观察(未加 EDTA-K<sub>2</sub>),结果显示,2 例患者白细胞呈散在分布,全片观察无聚集现象。病例 2 WBC 手工计数法、仪器预稀释模式计数法结果均高于 EDTA-K<sub>2</sub> 抗凝仪器法结果,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),而手工计数法与仪器预稀释模式计数法比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。病例 3 也得到相似的结果。这说明 EDTA-K<sub>2</sub> 抗凝血白细胞聚集可引起仪器法 WBC 假性降低。因此,校正抗凝剂诱导的 WBC 假性减少,推荐使用末梢血仪器预稀释模式计数法或手工计数法更为准确。

VCS 技术是专为血细胞分析仪中的白细胞分类而设计的库尔特专利技术,它将体积、传导性和光散射参数结合起来,可快速、特异地识别 EDTA 诱导的白细胞聚集现象。白细胞分类散点图与 VCS 参数能敏感地反映白细胞的形态学变化,其可检测出包括中性粒细胞、淋巴细胞、单核细胞等白细胞各个时期的体积、细胞核以及细胞质颗粒不同生理状态下的变化。当遇到 EDTA-K<sub>2</sub> 抗凝血白细胞聚集引起的白细胞假性减少病例时,白细胞散点图中淋巴细胞、单核细胞、中性粒细胞等白细胞相互重叠,无明显分界点,最终导致仪器对 WBC 分类产生误差,中性粒细胞计数偏低,淋巴细胞和单核细胞比例假性偏高,说明当白细胞成团聚集时,血细胞分析仪无法准确识别每一类细胞<sup>[5]</sup>。本研究中病例 1 住院期间共进行血细胞分析 16 次,单核细胞比例增高 15 次,为 10.3%~24.1%,由于检验人员的经验不足,从而漏诊;病例 2 住院期间共进行血细胞分析 8 次,单核细胞比例有 3 次增高,为 10.8%~12.4%;病例 3 共进行血细胞分析 6 次,单核细胞比例均增高,为 10.2%~23.7%。因此,对于血细胞分析仪单核细胞比例增高的病例,有必要进行更加严格的血涂片复检。

本研究 3 例患者的实验室检查结果显示,补体、超敏 C 反应蛋白、降钙素原正常,抗核抗体谱、类风湿关节炎抗体谱、支原体等检测均为阴性,因此,可以大致排除自身免疫性疾病及支原体感染导致的白细胞聚集。EDTA-K<sub>2</sub> 抗凝剂诱导的白细胞聚集与肿瘤的相关性还有待于进一步研究。

## 参考文献

- [1] 郭健莲,张阳根. EDTA 依赖性假性血小板减少原因分析及纠正[J]. 实验与检验医学, 2010, 28(3): 259-260.
- [2] 孙建新,王富江. 中性粒细胞聚集引起白细胞计数假性减少 1 例[J]. 国际检验医学杂志, 2013, 34(21): 2942.
- [3] KHALIL S H. EDTA-dependent leukoagglutination[J].

Am J Clin Pathol, 1991, 96(1):147-155.

1 例[J]. 检验医学, 2005, 20(2):108.

[4] 陈龙, 徐旭栋, 张永为, 王建超, 等. EDTA 依赖的假性白细胞减少的实验室分析与纠正对策[J]. 浙江临床医学, 2017, 19(8):1527-1528.

[6] 王军, 陈颖, 李艳. 原发性浆细胞白血病 22 例临床特征与治疗[J]. 中国肿瘤临床, 2010, 37(22):1293-1295.

[5] 杨大千, 陆丽芬, 李雪芬, 等. 外周血中性粒细胞低温聚集

(收稿日期:2020-02-11 修回日期:2020-05-02)

• 案例分析 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2020.20.053

## 明串珠菌致新生儿败血症 1 例并文献分析

李 芬

湖南省郴州市第一人民医院新生儿重症监护室, 湖南郴州 423000

关键词:明串珠菌属; 败血症; 早产儿

中图分类号:R722.13+1

文献标志码:C

文章编号:1672-9455(2020)20-3071-02

明串珠菌属也称无色藻菌属, 常见于乳(奶)制品、发酵食物、酿酒业和制糖业中, 人类感染致病较少见。新生儿感染明串珠菌起病急, 病情重, 应早期行细菌培养, 给予积极有效的抗感染治疗。本文报告 1 例明串珠菌所致出生 10 d 的早产儿感染新生儿败血症病例。患儿表现为反应差, 无发热, 完善感染指标, 提示 C 反应蛋白(CRP)、降钙素原(PCT)进行性增高, 伴血小板计数(PLT)进行性下降, 血培养提示明串珠菌。经外周静脉置入中心静脉导管(PICC)细菌培养提示明串珠菌属, 予抗感染、对症支持治疗后病情好转。

### 1 临床资料

患儿, 男, 胎龄 28<sup>+</sup><sub>5</sub> 周, 出生体质量 1.0 kg, 因母亲羊水过少、贫血, 胎儿宫内窘迫行剖宫产娩出, 无胎盘早剥及胎膜早破史, 母亲否认绒毛膜羊膜炎病史。出生后予无创呼吸机辅助呼吸, 完善感染指标, 结果提示, 白细胞计数(WBC)低( $3.18 \times 10^9/L$ ), 予氨苄西林/舒巴坦钠抗感染治疗 7 d, 复查感染指标正常后停用抗菌药物。停用抗菌药物治疗 3 d 后反应差, 呼吸表浅、不规则, 无发热。查体: 皮肤苍黄, 无花纹及瘀点、瘀斑, 双肺呼吸音对称, 未闻及啰音; 心律齐, 心音正常, 未闻及杂音; 腹膨隆, 腹肌张力高, 未见胃肠型及蠕动波, 肠鸣音减弱; 四肢肌张力下降, 足底毛细血管再充盈时间为 2 s, 原始反射引出不完全。完善血气分析, 提示代谢性酸中毒并呼吸性酸中毒, 血糖增高, 24 h 内监测 2 次血常规提示 PLT 进行性下降 [ $(57 \sim 98) \times 10^9/L$ ]。CRP 进行性升高 (28.9 ~ 80.5 mg/L), PCT 进行性升高 (1.67 ~ 25.67 ng/mL), 内毒素 0.036 6 EU/mL、葡聚糖 145.5 pg/mL。予美罗培南抗感染治疗 1 d, 血培养提示革兰阳性球菌, 改万古霉素治疗 2 d, 反应仍差, 监测感染指标提示 PLT 继续下降, 伴 CRP 明显增高 (135.0 mg/L)。血培养正式报告显示, 明串珠菌阳性, 其对万古霉素、美罗培南及头孢菌素类药物天然耐药。根据 2010 年版美国临床实验室标准化协会(CLSI)发布的相关指南中肺

炎链球菌以外的链球菌药敏判定标准, 改用青霉素联合氨苄西林/舒巴坦钠抗感染治疗 14 d, 病情好转后予停药。期间有喂养不耐受情况, PICC 细菌培养示明串珠菌属(导管从左下肢置入), 腰穿检查未见异常, 胸片提示新生儿肺炎, 腹平片提示肠胀气, 头颅 B 超检查示脑室旁白质回声增强。患儿母亲冰冻乳汁培养阴性, 新鲜乳汁培养表皮葡萄球菌阳性(采集乳汁时按正常消毒流程进行, 采集中段乳汁)。

### 2 讨 论

明串珠菌属由肠膜串珠菌和其他 7 个种(包括冷明串珠菌、肉明串珠菌、欺诈明串珠菌、嗜柠檬酸明串珠菌、阿根廷明串珠菌、假肠膜明串珠菌和乳明串珠菌<sup>[1]</sup>)组成。明串珠菌属最主要的两大特点是发酵葡萄糖产酸产气, 对万古霉素天然耐药, 这两大特点可与链球菌、肠球菌、乳杆菌、气球菌相鉴别<sup>[2]</sup>。明串珠菌亮氨酸氨肽酶(LAP)阴性, 精氨酸双水解酶阴性, 10 ℃ 生长; 片球菌呈四联状或簇状排列, 发酵葡萄糖产酸不产气, LAP 阳性, 精氨酸双水解酶阳性, 10 ℃ 不生长<sup>[3]</sup>。以上特点可鉴别明串珠菌和片球菌。而耐万古霉素的肠球菌吡咯烷酮芳基酰胺酶(PYR)阳性, 可与明串珠菌和片球菌相鉴别。

明串珠菌作为乳酸菌的一种, 人们普遍认为其不致病, 然而继 1985 年明串珠菌被报道后<sup>[4]</sup>, 陆续有相关病例报道。本文以“明串珠菌属”“乳明串珠菌”“肠膜串珠菌”“假肠膜串珠菌”“无色藻菌”“冷明串珠菌”“肉明串珠菌”“欺诈明串珠菌”“嗜柠檬酸明串珠菌”“阿根廷明串珠菌”为关键词检索 1999 年 1 月至 2019 年 7 月万方数据库及中国知网数据库的文献, 检索到 12 篇文献 13 例病例报道。这 13 例患者中男性占 61.54%, 其中 <1 岁及 >60 岁的患者占 84.60%, 有基础疾病者占 76.93%, 有关新生儿报道仅 1 例<sup>[5]</sup>, 而致健康婴儿感染报道 1 例<sup>[6]</sup>。

明串珠菌属致患者发病后可有多种表现: 败血症<sup>[1,6-8]</sup>、肺炎<sup>[9]</sup>、皮肤感染<sup>[10]</sup>、尿路感染<sup>[11]</sup>、胆道感