

(Baltimore), 2009, 88(5): 279-283.

[6] Bottone EJ. Bacillus cereus, a volatile human pathogen [J]. Clin Microbiol Rev, 2010, 23(2): 382-398.

[7] 刘泽春. 一起蜡样芽孢杆菌污染多种多餐食物引起中毒的调查分析[J]. 河南预防医学杂志, 2015, 26(1): 89-91.

[8] 毛丽萍, 王大选, 黄晓彤, 等. 致眼部感染病原菌及其耐药性分析[J]. 中国微生物学杂志, 2015, 27(3): 341-344.

[9] Lam KC. Endophthalmitis caused by Bacillus cereus: a devastating ophthalmological emergency[J]. Hong Kong Med J, 2015, 21(5): 475.

[10] Hilliard NJ, Schelonka RL, Waites KB. Bacillus cereus bacteremia in a preterm neonate[J]. J Clin Microbiol, 2003, 41(7): 3441-3444.

[11] Daichi I, Yuya N, Minako M, et al. Fulminant sepsis caused by Bacillus cereus in patients with hematologic malignancies: analysis of its prognosis and risk factors

[J]. Leuk Lymphoma, 2010, 51(5): 860-869.

[12] Uchino Y1, Iriyama N, Matsumoto K, et al. A case series of Bacillus cereus septicemia in patients with hematological disease[J]. Intern Med, 2012, 51(19): 2733-2738.

[13] Gaur AH, Patrick CC, McCullers JA, et al. Bacillus cereus bacteremia and meningitis in immunocompromised children[J]. Clin Infect Dis, 2001, 32(10): 1456-1462.

[14] Kuroki R, Kawakami K, Qin L, et al. Nosocomial bacteremia caused by biofilm-forming Bacillus cereus and Bacillus thuringiensis[J]. Intern Med, 2009, 48(10): 791-796.

[15] Kiyomizu K1, Yagi T, Yoshida H, et al. Fulminant septicemia of Bacillus cereus resistant to carbapenem in a patient with biphenotypic acute leukemia[J]. J Infect Chemother, 2008, 14(5): 361-367.

(收稿日期: 2016-03-14 修回日期: 2016-05-31)

• 案例分析 •

急性髓性白血病的鉴别诊断

王丽斌¹, 于远军¹, 姜丽杰¹, 张敏²

(1. 辽宁省大连市第三人民医院检验科 116033; 2. 上海交通大学附属瑞金医院, 上海 200025)

关键词: 急性白血病; 细胞形态; 融合基因; 鉴别诊断

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2016.14.070 文献标志码: C 文章编号: 1672-9455(2016)14-2071-02

急性白血病严重威胁着现代人们的健康, 随着全球环境的恶化, 患病率有着逐年上升的趋势。细胞形态学镜检是急性白血病诊断的基础和核心, 但凭形态分型有一定困难, 诊断符合率只有 60%~70%。随着生物分子学的发展, 不少融合基因在病程中有稳定且有独特的形态学和临床特点, 在急性白血病分型及分析预后起了重要作用。本文将对三种不同类型的急性髓性白血病进行鉴别分析。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2012 年至 2013 年本院及上海交通大学附属瑞金医院共 19 例初发的急性髓系白血病住院患者, 其中男 10 例, 女 9 例, 年龄 18~69 岁。

1.2 仪器 日本希森美康 XE2100 血球仪, 美国 BD FACS-Calibur 流式分析仪, OLYMPUS CX21 光学显微镜。

1.3 方法

1.3.1 染色 对外周血人工分类 100 个有核细胞, 骨髓分类 200 个有核细胞, 采用常规瑞氏染色和组化染色。同时采用细胞化学染色, 包括过氧化物(POX)酶染色, 糖原(PAS)染色, 氯乙酸 AS-D 萘酚酯酶(NAS-DCE)染色, 乙酸 AS-D 萘酚酯酶(NAS-DAE)染色加氯化钠(NAF)抑制试验。

1.3.2 免疫学检测 采用流式细胞分析仪检测肝素抗凝骨髓活细胞。

1.3.3 染色体常规检测 采集骨髓后在 24 h 内培养收集细胞, 采用 R 显带方法, 核型分析根据国际命名法(ISCN)。

1.3.4 分子生物学检测 采用巢式逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR)法。

2 结果

2.1 外周血象结果 外周血象检测结果见表 1。

表 1 M2b、M3 及 M4Eo 患者的外周血象结果(n)

疾病分类	血红蛋白(g/L)			白细胞($\times 10^9/L$)			血小板($\times 10^9/L$)		原始细胞	
	$\geq 31 \sim 60$	$\geq 61 \sim 90$	$\geq 91 \sim 110$	≤ 4	$\geq 4.1 \sim 10$	≥ 10	< 100	≥ 100	≤ 10	> 10
M2b(n=3)	0	3	0	0	0	0	2	1	0	3
M3(n=10)	2	5	3	5	1	4	10	0	0	10
M4EO(n=6)	0	4	2	0	0	6	6	0	0	6

表 2 M2b、M3 及 M4Eo 病人的骨髓象及组化染色检查结果(n)

疾病分类	增生程度		异常细胞			POX 阳性	PAS 阳性	CE 阳性	AE 阳性	NAF 抑制率(%)	
	极度活跃	明显活跃	异常早幼粒	异常中幼粒	异常嗜酸细胞					≤ 30	$\geq 31 \sim 70$
M2b(n=3)	0	3	0	3	0	2	0	0	3	3	0
M3(n=10)	4	6	10	0	0	10	10	10	10	9	1
M4EO(n=6)	2	4	5	0	1	6	1	0	6	1	5

2.2 骨髓象及组化染色检查结果 骨髓象及组化染色检查结果见表2。

2.3 免疫学、细胞遗传学和分子生物学检测结果 3例M2b患者骨髓中均伴有t(8;21)(q22;q22)核型改变,AML1-ETO融合基因阳性。流式细胞学CD34,HLA-DR,CD13,CD33,CD15阳性。10例M3患者骨髓中,均伴有t(15;17)(q22;q12)核型改变,PML-RAR融合基因阳性,流式细胞学CD13,CD33阳性。6例M4EO患者骨髓中,伴有inv(16)(p13;q22);t(16;16)(p13;q22)核型改变,CBF-MYH11融合基因阳性,流式细胞学HLA-DR,CD13,CD33阳性。

3 讨论

本文结果显示,三种白血病患者外周血检测以中度贫血为主(12/19),白细胞增多(10/19),血小板减少(18/19)为主,且易见白血病细胞。同时,三种白血病患者骨髓涂片检测以增生明显活跃和极度活跃为主。M2b患者骨髓中可见原粒细胞占30%~90%,异常中幼粒细胞占13%~19%。异常中幼粒细胞有典型的特点:胞核呈异常畸形,胞核常有核仁,有明显的核浆发育不平衡,胞浆呈淡红色,无中性颗粒形成,POX,AE常见阳性,不被NAF抑制。流式细胞学检测CD34,HLA-DR阳性率很高,说明M2b细胞成分比较原始,CD13,CD33,CD15阳性说明有部分分化。M2b患者骨髓中均伴有t(8;21)(q22;q22)核型改变,AML1-ETO融合基因阳性。符合WHO分型中的AML伴t(8;21)(q22;q22);(AML1-ETO)。M3患者骨髓中可见异常早幼粒细胞占85%~95%。异常早幼粒细胞有典型的特点:胞核呈不规则形,易见核仁及Auer小体,胞浆量多灰蓝色,有内外质,内质有大量的嗜苯胺蓝颗粒,颗粒粗大或细小密集,外质为蓝色无颗粒,呈伪足状突出。组化染色POX,PAS,CE,AE呈强阳性反应,不被NAF抑制,流式细胞学CD13,CD33阳性,并出现特征性t(15;17)(q22;q12)染色体易位,PML-RAR融合基因阳性,具有很高的特异性。符合WHO分型中的AML伴t(15;17)(q22;q12);(PML-RAR)。M4EO患者骨髓中白血病细胞占37%~84%,幼稚及成熟嗜酸细胞占10%~20%。形态学上,白血病细胞具有原粒、原单及幼单的形态学特点,嗜酸细胞除了有橘黄色嗜酸颗粒外还会出现不成熟的黑色嗜碱颗粒,核不分叶常见。组化染色POX,AE呈阳性反应,常被NAF抑制。细胞遗传学检测其伴有inv(16)(p13;q22)或t(16;16)(p13;q22)核型改变,CBF-MYH11融合基因阳性,流式细胞学HLA-DR,CD13,CD33阳性。符合WHO分型中的AML伴inv(16)(p13;q22);或t(16;16)(p13;q22)(CBF-MYH11)。

临床上急性白血病的筛查,往往通过外周血计数及涂片的方法,结果显示,急性白血病通常会出现两系或两系以上降低,外周血涂片中发现原始或幼稚细胞出现。同时显示,骨髓细胞形态学及细胞组化分析中形态学镜检仍占有很重要的作用,随着MICM分型的建立,逐步弥补了由于形态学分型的不足。M2b患者出现的异常中幼粒细胞对诊断有很大的帮助,组化染色中POX,AE常见强阳性,由于CE染色在分化较好的早幼及成熟粒细胞阳性率高,但在M2b异常中幼粒细胞阳性不明显^[1]。另外,骨髓中异常中幼粒细胞比例常未达到诊断标准要求的30%以上^[2],临床上形态学诊断应注意,但AML1-ETO在M2b中阳性率可达71%~95%^[3-4],其特异的融合基因有助于诊断,在治疗方面,AML1-ETO阳性的白血病细胞有一定的分化能力,能分化成较成熟的中性粒细胞和嗜酸性粒细胞,且对大剂量的阿糖胞苷治疗效果较好,具有较高的缓解率,

无病生存期长,预后较其他的AML亚型(M3除外)好。典型的M3患者形态上较易辨别,组化POX,PAS,CE,AE强阳性,NAF不被抑制,M3a呈现粗颗粒型,占80%,但有15%~20%的细颗粒型M3b和M2b形态学易混淆,另外,会出现变异M3c型(胞浆嗜碱,核/浆比值高,颗粒无或稀少)^[5],形态学诊断也比较困难,需要遗传学和分子生物学来确诊。PML-RAR融合基因的检测,是M3型白血病PML-RAR断最特异、敏感的方法之一,阳性率达99%^[6],继t(15;17)之后,又先后发现4种M3特异的累及RAR的变异性染色体易位:t(11;17)(q23;q21),t(5;17)(q35;q21),t(11;17)(q13;q21)以及dup(17)(q21.3;q23),分别产生PLZF-RAR α ,NPM-RAR α ,NuMA-RAR α 和STAT5b-RAR α 融合基因,临床上,具有PLZF-RAR α 或STAT5b-RAR α 融合基因患者对ATRA治疗不敏感,其余三种染色体易位患者经ATRA治疗可获完全缓解可达80%以上^[7],由于PML基因断裂点不同产生3种不同的PML-RAR α 异构体,约55%的M3患者为L型,40%为S型5%为V型,且每位患者只表达一种PML-RAR α 融合蛋白,形态学上S型白血病细胞常为低分化,且这些患者可见继发细胞遗传学异常,V型M3患者的白血病细胞体外对ATRA的敏感度低。M4EO型白血病患者出现的嗜酸细胞比例增高,组化染色POX和AE阳性,NAF被抑制,结合白血病细胞比例在细胞形态学分型相对比较容易,但应与嗜酸粒细胞白血病鉴别诊断,后者嗜酸粒细胞比例明显增高,形态异常明显。inv(16)(p13;q22);t(16;16)(p13;q22)在M4EO型白血病患者中有较高的特异性^[8]。CBF-MYH11融合蛋白通过干扰核心结合因子(CBF)的转录激活作用而致病,具有CBF-MYH11的患者对化疗敏感,预后较好,故提高检测率尤具临床意义。

综上所述,形态学检查仍然是诊断M2b、M3、M4EO白血病的基础,但对不典型及无法鉴别诊断的急性白血病,通过特异性分子学和遗传学标记,联合检查可提高确诊率,对血液病WHO分型、指导临床用药、判断预后具有决定性作用。

参考文献

- [1] 朱竑,崔雯.骨髓细胞化学染色对急性白血病分型的诊断意义[J].国际检验医学杂志,2012,33(17):2142-2143.
- [2] 张之南,沈悌.血液病诊断及疗效标准[M].3版.北京:科学出版社,2007:103-115.
- [3] 王平,彭贵贤,陈幸华,等.AML1/ETO+融合基因阳性的AML患者骨髓细胞形态学分析[J].重庆医学,2010,39(12):1503-1504.
- [4] 卢志贤.伴特异性融合基因急性髓细胞白血病的探讨与分析[J].中国实验诊断学,2013,17(5):949.
- [5] 刘香琴.急性早幼粒细胞白血病细胞亚型的形态学特征研究[J].临床医学,2014,34(4):4-5.
- [6] 黄晓军,王建祥,沈志祥,等.中国急性早幼粒细胞白血病诊疗指南(2014年版)[J].中华血液学杂志,2014,35(5):885-886.
- [7] 孟红彬,周晋.亚砷酸治疗急性早幼粒细胞白血病的研究进展[J].中国急救医学,2012,32(2):164-165.
- [8] 伍惠玲,秦雪,宁自觉,等.急性白血病患者染色体核型分析[J].中国实验诊断学,2012,16(3):465-467.