

· 论 著 ·

急性白血病患者感染细小病毒 B19 的血常规和临床体征分析

常 林, 陈红兵, 朱 君, 张雯雯

〔摘要〕 目的 通过检测新发现的急性白血病患者和接受过化疗的急性白血病患者体内细小病毒 B19DNA 及其血清中的特异性抗体,探讨细小病毒 B19 感染对患儿血常规和临床体征的影响。方法 将 2011 年 1 月 - 2013 年 1 月住院的 95 名急性白血病患者分为两组。第一组:50 名接受过化疗的急性白血病患者;第二组:45 名新发现、未接受过化疗的急性白血病患者。两组采用 PCR 法检测细小病毒 B19DNA,以 ELISA 法检测血清细小病毒 B19-IgG 和 B19-IgM 抗体。结果 ①第一组检测细小病毒 B19 病毒 DNA 阳性率为 32.0%,第二组为 46.7%,对照组为零。②第一组当前感染的患儿有显著的血红蛋白和中性粒细胞水平下降及淋巴细胞增多;第二组当前感染的患儿有显著的中性粒细胞减少、血小板减少以及淋巴细胞增多。③临床体征方面,两组当前感染患儿都有明显的肝脾、淋巴结肿大和发热。结论 不管有无接受过化疗,细小病毒 B19 感染都是急性白血病患者血细胞减少的重要原因。此外,细小病毒 B19 的感染与显著的肝脾、淋巴结肿大有一定的相关性。

〔关键词〕 细小病毒 B19;急性白血病;儿童;血细胞减少

〔中图分类号〕 R733.71 〔文献标志码〕 A doi:10.3969/j.issn.1672-271X.2013.05.013

Hematological and clinical signs study for Parvovirus B19 infection in children with acute leukemia

CHANG Lin, CHEN Hong-bing, ZHU Jun, ZHANG Wen-wen. Clinical Laboratory, Nanjing Children's Hospital Affiliated to Nanjing Medical University, Nanjing, Jiangsu 210009, China

〔Abstract〕 Objective This study aimed to detect parvovirus B19 DNA together with its antibodies in the sera of children with recent acute leukemia and those with acute leukemia receiving chemotherapy to clarify the contribution of this infection to changes observed in hematological and clinical presentations in these population. Methods 95 cases of acute leukemia from January 2011 to January 2013 were analyzed by the method of retrospective study. Two groups were included: Group I comprised 50 children with acute leukemia receiving chemotherapy and Group II comprised 45 children with recently diagnosed acute leukemia. Serum parvovirus B19 IgG and IgM were investigated by enzyme-linked immunosorbent assay and the virus DNA was sought by polymerase chain reaction assay in 95 cases of acute leukemia and 40 cases of healthy children. Results ①Viral DNA was found in 32% of Group I patients and in 46.7% of Group II patients, the control group was not detected. ②Hemoglobin levels were significantly reduced in patients with recent infection, accompanied by statistically significant lymphocytosis in Group I patients. Group II patients with recent infection had marked neutropenia with lymphocytosis and thrombocytopenia. ③There was statistically significant lymphadenopathy and hepatosplenomegaly in patients with recent infection in both groups. Conclusion Parvovirus B19 infection is an important cause of cytopenia in children with acute leukemia both when recently diagnosed and receiving chemotherapy. This can affect the schedule of chemotherapy. Moreover, the presence of Parvovirus B19 is associated with marked lymphadenopathy and hepatosplenomegaly.

〔Key words〕 parvovirus B19; acute leukemia; children; cytopenia

细小病毒 B19 是细小病毒属中唯一对人类致病的单链线状 DNA 病毒,已有文献报道了血液系统肿瘤患儿有较高的细小病毒 B19 感染率,并诱发骨髓红细胞受抑和慢性贫血^[1]。本文采用 PCR 和 ELISA 法对在我院住院的急性白血病患者进行细小病毒 B19DNA 及其特异性抗体检测,以探讨细小病毒 B19 感染对患儿临床体征和血常规的影响,现报告如下。

1 材料与方法

作者单位: 210009 江苏南京,南京医科大学附属南京儿童医院检验科

1.1 研究对象 将 2011 年 1 月 - 2013 年 1 月本院收治的 95 名急性白血病住院患儿分成两组。第一组 50 例急性白血病患者接受过化疗,包括急性淋巴细胞白血病 (acute lymphoblastic leukemia, ALL) 35 例和急性粒细胞白血病 (acute myeloblastic leukemia, AML) 15 例。ALL 患儿接受维持化疗,AML 患儿接受巩固治疗。第二组 45 例为新入院的急性白血病患者,未接受过化疗,住院接受进一步的血液学检查。包括 ALL 32 例和 AML 13 例。所有 ALL 和 AML 的诊断和分级均参照形态学 (morphology, M)、免疫学 (immunology, I) 和细胞遗传学 (cytogenetic, C) 的 MIC 分型诊断标准^[2]。另选 50 位健康儿童纳入对照组,各组研究对象的年龄、性别均匹配。

1.2 仪器设备 PCR 仪(美国 BIO-RAD 公司)

1.3 主要试剂 细小病毒 B19DNA 检测试剂盒(美国 QIAGEN 公司),细小病毒 B19-IgG 和 B19-IgM 抗体 ELISA 试剂盒(德国 R-Biopharm 公司)。

1.4 方法

1.4.1 常规检查 包括血细胞计数等;B 超检查患儿肝脾和淋巴结并按相关标准判断有无肿大。

1.4.2 细小病毒 B19-IgG 和 B19-IgM 抗体检测 根据说明书进行。

1.4.3 细小病毒 B19DNA 检测 按照说明书的步骤抽取血清中细小病毒 B19DNA,采用 PCR 扩增检测。两对引物的序列分别是:引物 A:5'-TGTGCTA-AGAAAAATAC-3' 和 5'-TCATTAATGGATTT-3';引物 B:5'-GGAACAGACTTAGAGCTTATTC-3' 和 5'-ACCCATCCTCTCTGTTTGACTTAGTTGCTCGTAT-3'(上海申能博彩生物有限公司合成)。PCR 具体操作方法参见药盒说明书。克隆的细小病毒 B19 作为阳性对照 DNA,每个样本进行 β -球蛋白扩增作为内参以排除假阴性。扩增产物以凝胶电泳检测,DNA maker 证实存在一个 218 bp 的阳性条带, β -球蛋白条带位于 268 bp。

1.4.4 诊断标准 根据相关参考文献^[3],本研究将阳性分为以细小病毒 B19DNA 和(或)细小病毒 B19-IgM 阳性为标志的当前感染,以细小病毒 B19-IgG 阳性为标志的既往感染。

1.5 统计学处理 应用 SPSS 16.0 软件进行数据

处理。计量数据采用均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较应用 t 检验,多组之间采用单向方差分析进行比较;定性数据用数字和百分率表示,组间比较应用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 细小病毒 B19DNA 及其特异性抗体检测结果 见表 1。对照组没有检测到细小病毒 B19DNA 及细小病毒 B19-IgG 和 B19-IgM 抗体。所有 95 名患儿中,当前感染 59 例,IgM 阳性 41 例,细小病毒阳性 37 例,其中单独的 IgM 阳性 22 例,单独细小病毒 B19DNA 阳性 18 例,两者同时阳性 19 例。既往感染 27 例,无感染 9 例。

表 1 三组细小病毒 B19DNA 及其特异性抗体的阳性率比较[n(%)]			
项目	第一组 (n=50)	第二组 (n=45)	对照组 (n=50)
B19-IgM	17(34.0)*	24(53.3)*	0
B19-IgG	19(38.0)*	8(17.8)*	0
细小病毒 B19DNA	16(32.0)*	21(46.7)*	0

注:与对照组比较,* $P < 0.01$

2.2 临床表现 第一组和第二组中,当前感染的患儿与既往感染的患儿相比,其肝、脾肿大、发热和淋巴结肿大发生率均显著增加($P < 0.01$)。但皮疹等在两组之间差异无统计学意义($P > 0.05$,表 2)。

表 2 细小病毒 B19 感染和临床表现之间的关联[n(%)]						
临床表现	第一组(n=50)			第二组(n=45)		
	当前感染 (n=23)	既往感染 (n=19)	无感染 (n=8)	当前感染 (n=36)	既往感染 (n=8)	无感染 (n=1)
发热	13(56.5)*	4(21.0)	2(25.0)	20(55.5)*	2(25.0)	0
皮疹	3(13.0)	5(26.3)	0	5(13.8)	1(12.5)	0
肝脾肿大	16(69.6)*	2(10.5)	1(12.5)	28(77.7)*	1(12.5)	0
淋巴结肿大	17(73.9)*	6(31.6)	0	31(86.1)*	0	0

注:与组内既往感染患儿比较,* $P < 0.01$

2.3 血常规检查 第一组中,当前感染患儿与既往感染患儿相比,有显著的血红蛋白(Hb)减少、淋巴细胞(LYMPH)增多和中性粒细胞(NEUT)减少($P < 0.05$)。红细胞(RBC)、白细胞(WBC)和血小板(PLT)比较差异无统计学意义($P > 0.05$,表 3)。第二组中,与既往感染患儿相比,当前感染患儿有显著的 NEUT 减少($P < 0.05$)、PLT 减少($P < 0.05$)及 LYMPH 增多($P < 0.01$),RBC、WBC 和 Hb 比较差异均无统计学意义($P > 0.05$,表 4)。

表 3 第一组中细小病毒 B19 当前感染和既往感染对血常规检查的影响($\bar{x} \pm s$)			
项目	当前感染 (n=23)	既往感染 (n=19)	无感染 (n=8)
Hb (g/L)	82.0 \pm 10.0*#	95.0 \pm 14.0	105.0 \pm 8.0
RBC (10^{12} /L)	2.9 \pm 0.4	3.5 \pm 0.5	3.5 \pm 0.6
WBC (10^9 /L)	10.1 \pm 4.5	8.9 \pm 3.6	6.8 \pm 2.2
NEUT (10^9 /L)	0.5 \pm 0.1*#	5.1 \pm 2.4	6.4 \pm 7.5
LYMPH (10^9 /L)	4.4 \pm 1.7*#	2.1 \pm 1.8	2.6 \pm 0.8
PLT (10^9 /L)	160.2 \pm 105.0	150.0 \pm 77.0	130.0 \pm 90.0

注:与既往感染患儿比较,* $P < 0.05$;与无感染患儿比较,# $P < 0.05$

表 4 第二组中细小病毒 B19 当前感染和既往感染对血常规检查的影响($\bar{x} \pm s$)

项目	当前感染 (<i>n</i> = 36)	既往感染 (<i>n</i> = 8)	无感染 (<i>n</i> = 1)
Hb (g/L)	69.0 ± 17.0	72.0 ± 18.0	101.0
RBC (10 ¹² /L)	2.5 ± 0.6	2.2 ± 0.3	3.5
WBC (10 ⁹ /L)	57.0 ± 35.0	68.0 ± 38.0	24.0
NEUT (10 ⁹ /L)	1.7 ± 0.7 [*]	2.8 ± 0.6	1.1
LYMPH (10 ⁹ /L)	6.1 ± 2.2 [#]	1.9 ± 0.5	7.0
PLT (10 ⁹ /L)	64.0 ± 13.0 [*]	125.0 ± 35.0	103.0

注:与既往感染患儿比较, ^{*}*P* < 0.05, [#]*P* < 0.01

3 讨 论

本研究发现,细小病毒 B19 及其特异的 IgM 抗体显著地存在于已接受化疗的急性白血病患儿的血清中(分别为 32% 和 34%),在接受化疗的急性白血病患者中亦存在较高的细小病毒 B19 急性感染。此结果与 Zaki 等^[3]的研究结果相似。本文认为急性白血病和细小病毒 B19 感染之间也许存在某种联系,而化疗导致的免疫抑制或反复地输血治疗亦可能造成细小病毒 B19 的持续性感染^[4-5]。本研究在新发现的白血病患者中,有 46.7% 的患儿检测到细小病毒 B19DNA,53.3% 的患儿检测到其特异的 IgM 抗体。Kerr 等^[6]在新发现的 16 名 ALL 患儿中证实有 4 名细小病毒 B19 当前感染。在研究新发患者的急性白血病和病毒之间的关系时,有学者认为细小病毒 B19 只在白血病的进展中起作用,急性白血病可能始于胎儿期的宫内感染^[7]。另有人认为,在急性白血病诊断之前或诊断时就有不同形式的血细胞减少的可能^[8]。本研究中第二组患儿中,相对于既往感染的患儿,当前感染的患者有显著的中性粒细胞减少(*P* < 0.05)和血小板减少(*P* < 0.05),似乎证实后一论点。另有报道称白血病细胞里有细小病毒 B19 受体的表达^[9],细小病毒 B19 感染伴随亚临床的免疫缺陷的患者可能导致白血病的发展,或是细小病毒 B19 感染可能促进克隆样增生^[8]。最新的研究显示,在成人白血病患者中,细小病毒 B19 感染和 P15(INK4B)启动子甲基化可能存在一定的相关性^[10]。但越来越多的人认为,细小病毒 B19 感染是作为一项致病因素存在于白血病的发展中的^[8]。

急性白血病发病时可有多个器官浸润,以肝脾受累最为多见^[11]。本研究显示,当前感染和肝脾肿大、淋巴结肿大存在很大的联系。一些报道认为,肝脾肿大和淋巴结肿大的患者存在细小病毒 B19 的表达^[12-13]。淋巴结肿大与细小病毒 B19 的感染有

关,反映了免疫细胞增殖的过程。在本研究中,与细小病毒 B19 感染相关的典型临床症状,如特异性皮疹的表现无特殊,因此仅凭临床症状来诊断细小病毒 B19 感染很困难。

本研究还检测出 22 例单独的细小病毒 B19-IgM 抗体阳性和 18 例单独的细小病毒 B19DNA 阳性,因此仅采用单一方法检测,对那些免疫力减弱的患者有可能漏诊,需要联合检测^[14]。有报道^[15]称,检测病毒 DNA 的方法优于血清学方法,细小病毒 B19DNA 可以持续存在于患者血清中达 10 月以上;特别是对于那些免疫力减弱的感染患者^[16]。而有些患者仅检测有 IgM 抗体而没有病毒 DNA,单凭 DNA 检测也可能漏诊。显然对于免疫受损患者细小病毒 B19 感染的检测,DNA 和血清学检查都是需要的^[17]。

总之,本文中无论患儿是新发现的还是接受过化疗的,细小病毒 B19 感染似乎是急性白血病患者血细胞减少的重要原因。此外,细小病毒 B19 感染与肝脾、淋巴结肿大,红细胞系统受抑制、淋巴细胞增殖均有关联;细小病毒 B19 感染也许是急性白血病一项重要的发病机制。

【参考文献】

[1] 焦 丽,张国成,钱新宏,等. 血液系统肿瘤患儿人微小病毒 B19 感染的检测及意义[J]. 中华血液学杂志,1999,20(2): 94-95.

[2] 竺晓凡. 小儿血液学[M]. 天津:天津科学技术出版社,2005: 424-443.

[3] Zaki ME, Ashray RE. Clinical and hematological study for Parvovirus B19 infection in children with acute leukemia[J]. Int J Lab Hematol,2010,32(2): 159-66.

[4] Fattet S, Cassinotti P, Popovic MB. Persistent human parvovirus B19 infection in children under maintenance chemotherapy for acute lymphocytic leukemia[J]. J Pediatr Hematol Oncol,2004,26(8): 497-503.

[5] Mihneva Z. Clinical manifestations, risks and trends regarding human Parvovirus B19 infection[J]. Med Rev,2005,41(8): 5-14.

[6] Kerr JR, Barah F, Cuniffe VS, et al. Association of acute parvovirus B19 infection with new onset of acute lymphoblastic and myeloblastic leukaemia[J]. J Clin Pathol,2003,56(11): 873-875.

[7] Wiemels JL, Cazzaniga G, Daniotti M. Prenatal origin of acute lymphoblastic leukaemia in children[J]. Lancet,1999,354(9189): 1499-1503.

[8] Yetgin S, Cetin M, Aslan D, et al. Parvovirus B19 infection presenting as pre-B-cell acute lymphoblastic leukemia: a transient and progressive course in two children[J]. J Pediatr Hematol Oncol, 2004,26(10): 689-692.

[9] Cooling LL W, Zhang DS, Naides SJ. Glycosphingolipid expression in acute nonlymphocytic leukemia: common expression of Shiga

toxin and parvovirus B19 receptors on early myeloblasts [J]. Blood, 2003, 101 (2) : 711-721.

[10] Yalcin A, Serin MS, Emekdas G, et al. Promoter methylation of P15 (INK4B) gene is possibly associated with parvovirus B19 infection in adult acute leukemias [J]. Int J Lab Hematol, 2009, 31 (4) : 407-419.

[11] 周 岩, 章海涛, 唐 政. 以急性肾损伤为首表现的急性淋巴细胞白血病 2 例 [J]. 东南国防医药, 2008, 10 (5) : 321-325.

[12] Knösel T, Meisel H, Borgmann A, et al. Parvovirus B19 infection associated with unilateral cervical lymphadenopathy, apoptotic sinus histiocytosis, and prolonged fatigue [J]. J Clin Pathol, 2005, 58 (8) : 872-875.

[13] Mehraein Y, Wagner M, Remberger K, et al. Parvovirus B19 detected in Rosai-Dorfman disease in nodal and extranodal manifestations [J]. J Clin Pathol, 2006, 59 (12) : 1320-1326.

[14] Schleuning M, Jager G, Holler E, et al. Human parvovirus B19-associated disease in bone marrow transplantation [J]. Infection, 1999, 27 (2) : 114-117.

[15] Flunker G, Peters A, Wiersbitzky S, et al. Persistent parvovirus B19 infections in immunocompromised children [J]. Med Microbiol Immunol, 1998, 186 (4) : 189-194.

[16] Harder C, Hufnagel M, Zahn K, et al. New light cyclor PCR for rapid and sensitive quantitation of parvovirus B19 DNA guides therapeutic decision making in relapsing infection [J]. J Clin Microbiol, 2001, 39 (12) : 4413-4419.

[17] Us T, Ozune L, Kasifoglu N, et al. The investigation of parvovirus B19 infection in patients with haematological disorders by using PCR and ELISA techniques [J]. Braz J Infect Dis, 2007, 11 (3) : 327-330.

(收稿日期: 2013-07-08; 修回日期: 2013-08-22)

(本文编辑: 张仲书; 英文编辑: 王建东)



· 个 案 ·

长春瑞滨所致迟发性静脉炎 1 例的护理

张丽娇, 李广翠

[关键词] 长春瑞滨; 迟发性静脉炎; 护理; 电话回访
[中图分类号] R472; R730.5 [文献标志码] B
doi: 10. 3969/j. issn. 1672-271X. 2013. 05. 033

1 病例报告

患者男, 49 岁, 肺癌Ⅱ期, 化疗第 4 个周期, 选择长春瑞滨和顺铂方案, 化疗开始第 1 天用长春瑞滨选取左臂右下静脉穿刺后常规液体输入, 冲管顺畅, 回血良好, 静脉滴入生理盐水 100 ml + 地塞米松 5 mg 的一半, 将长春瑞滨溶于 100 ml 生理盐水 15 ~ 20 min 内分两次缓慢输注 (静脉注射可控制在 6 ~ 10 min 内注完), 中途再用另一半生理盐水 + 地塞米松 5 mg 冲管, 顺利滴完再给予生理盐水快速冲管, 过程顺利, 无不良应。化疗后出院, 患者在化疗后第 4 天来医院时, 左臂输液处出现水泡和溃疡, 诉回家后的第 2 天晚上, 表现为局部红肿伴疼痛。立即给予清创治疗, 然后皮下注入解毒剂; 局部涂氢化可的松软膏或用 5% 硫酸镁湿敷, 冰敷 24 ~ 48 h, 以减轻疼痛, 使解毒剂停留于局部; 化疗后第 7 天水泡吸收, 第 9 天创面干燥、结痂。2 周后局部见色素沉着。

2 讨 论

长春瑞滨为广谱抗肿瘤药, 可以引起注射部位疼痛、静脉炎、甚至皮肤溃疡、坏死等不良反应的发生, 目前尚无特效

解毒剂, 重点在于预防^[1]。应用长春瑞滨时要选择近心端、管腔大、回流通畅的上肢静脉; 有条件最好采用深静脉置管化疗, 不能采用深静脉置管化疗的患者, 要建立静脉使用计划, 保护大静脉^[2]; 用药前必须用生理盐水建立静脉通路, 确定穿刺成功后再注入化疗药物, 用药后用生理盐水冲洗该静脉; 使用长春瑞滨前后均应静脉注射地塞米松 5 mg, 可以预防静脉炎的发生。

长春瑞滨所致的静脉炎多发生在静脉注射后的第 2 ~ 7 天, 在出院前由责任护士对患者进行详细的出院指导, 在患者出院后的第 2 天开始由责任护士主动进行电话回访, 回访内容包括询问患者静脉穿刺处皮肤情况, 如有无红、肿、疼痛和水泡等, 是否按时给予静脉湿敷, 并认真记录, 同时提醒或告知相应的预防方法, 出现异常及早来医院就诊^[3]。

【参考文献】

[1] 范茹英. 2 例长春瑞滨静脉注射后导致静脉炎的观察及护理 [J]. 医学信息, 2009, 22 (3) : 384-384.

[2] 戴 英, 张南征, 魏聿萍. 预防 5-氟尿嘧啶化疗所致静脉炎的护理措施 [J]. 东南国防医药, 2007, 9 (1) : 24-26.

[3] 李玉梅, 赵 娟. 电话回访预防长春瑞滨致迟发性静脉炎探讨 [J]. 上海护理, 2009, 9 (1) : 18-20.

(收稿日期: 2013-03-04)

(本文编辑: 潘雪飞)