

反复输血后血小板输注无效患者抗体阳性率、特异性及影响因素分析

张桂芬¹ 闫萌²

[摘要] 目的:分析反复输血后血小板(PLT)输注无效患者 PLT 抗体检测阳性率、特异性及其影响因素。方法:随机选取 2015-11—2017-11 反复输血后 PLT 输注无效住院患者的血清标本 80 例,通过固相凝聚法检测 PLT 抗体,并统计人类白细胞抗原(HLA)、人类 PLT 抗原(HPA)及 PLT 同种抗体的特异性及阳性率,同时分析其与性别、年龄、输血成分、输血次数等因素的关系。结果:PLT 输注无效患者的 PLT 同种抗体检出率为 64.00%(52/80),其中同种 HLA、HPA 抗体阳性率分别为 43.75%(35/80)、21.25%(17/80),且 58.82%(10/17) HPA 抗体阳性患者同时被检出 HLA 阳性;PLT 自身抗体阳性检出率是 12.50%(10/80)。男性患者的 PLT 抗体阳性检出率低于女性患者,但差异无统计学意义($P>0.05$);不同类型输血成分中,悬浮红细胞 70.00%(14/20)高于少白细胞悬浮红细胞 25.00%(5/20),浓缩 PLT 95.00%(19/20)高于单采 PLT 70.00%(14/20)($P<0.05$);PLT 抗体的数量与输血次数呈正相关($P<0.01$)。结论:反复输血后 PLT 输注无效患者以同种 HLA、HPA 抗体最为常见,且 PLT 抗体的数量与输血次数呈正相关,不同的输血成分与产生的 PLT 抗体有着密不可分的联系。

[关键词] 血小板;自身抗体;PLT 抗原;同种抗原

doi:10.13201/j.issn.1004-2806-b.2020.06.004

[中图分类号] R555 **[文献标志码]** A

Analysis of positive rate, specificity and influencing factors of PLT antibody detection in patients with ineffective platelet transfusion after repeated transfusion

ZHANG Guifen¹ YAN Meng²

(¹Department of Transfusion, Baoding First Central Hospital, Baoding, 071000, China; ²Department of General Surgery, Baoding First Central Hospital)

Corresponding author: YAN Meng, E-mail: shuxueke5976569@163.com

Abstract Objective: To analyze the positive rate, specificity and influencing factors of PLT antibody detection in patients with ineffective platelet transfusion after repeated transfusion. **Method:** The serum samples of 80 inpatients who were ineffective after repeated blood transfusion were selected from November 2015 to November 2017 in our hospital. The platelet antibodies were detected by solid phase coagulation, and the specificity and positive rate of HLA, HPA and platelet alloantibodies were measured, and the relationship between these and sex, age, blood transfusion composition and transfusion times were analyzed. **Result:** The detection rate of platelet alloantibody was 64.00%(52/80) in patients with ineffective platelet transfusion, in which the positive rates of homologous HLA and HPA antibodies were 43.75%(35/80) and 21.25%(17/80) respectively, and 58.82%(10/17) HPA antibody positive patients were detected at the same time, and the positive rate of platelet autoantibody was 12.50%(10/80). The positive rate of platelet antibody in male patients was lower than that of female patients, but the difference was not significant($P>0.05$). Among the different types of blood transfusion, suspended red cell 70.00%(14/20) was higher than that of little white blood red blood cells 25.00%(5/20), and 95.00%(19/20) of concentrated platelets was higher than that of single extracted platelets 70.00%(14/20)($P<0.05$). There was a positive correlation between the number of platelet antibodies and of transfusion times($P<0.01$). **Conclusion:** The homologous HLA and HPA antibody are most common in patients with ineffective platelet transfusion after repeated blood transfusion, and the number of platelet antibodies is positively correlated with blood transfusion times, and there is an inseparable relationship between different components of blood transfusion and produced platelet antibody.

Key words platelets; autoantibodies; platelet antigens; alloantigens

¹保定市第一中心医院输血科(河北保定,071000)

²保定市第一中心医院普外科

通信作者:闫萌, E-mail: shuxueke5976569@163.com

血小板(platelet, PLT)是一种通过释放 PLT 颗粒并结合表面多种受体共同协调各种生理、病理反应的从骨髓成熟的巨核细胞解脱落下来的小块细胞质,目前临床上普遍应用 PLT 输注以减少出血患者的死亡率或缓解出血患者的出血症状,是一种不可替代的重要疗法^[1]。然而临床上仍然存在 PLT 输注无效事件的发生,其中反复输血患者出现 PLT 输注无效事件的发生率高达 60.00%,因而严重影响 PLT 输注治疗效果,故加大对反复输血后 PLT 输注无效的研究迫在眉睫^[2]。本研究通过我院反复输血后 PLT 输注无效的 80 例患者血清标本研究,分析反复输血后 PLT 输注无效患者 PLT 抗体检测阳性率、特异性及其影响因素。

1 对象与方法

1.1 对象

将我院 2015-11—2017-11 反复输血后 PLT 输注无效 80 例患者的血清标本作为研究对象,其中男 36 例,女 44 例;年龄 9~76 岁,平均(42.46±9.35)岁;输血次数≥3 次。纳入标准:①输血次数≥3 次;②每次输注足量的 PLT 后血浆中 PLT 计数仍未见明显增加,其临床症状均未见显著好转;③每次输注足量的 PLT 1 d 后 PLT 回收率均低于 20%。

1.2 材料及试剂

采用固相凝集法检测 PLT 抗体,其中 PLT 交叉配型试剂盒由上海抚生实业有限公司提供;BC-3000PLSM 血细胞计数仪由上海乔跃电子科技有限公司提供;TD-3A 型血型血清学离心机由北京时代北利离心机有限公司提供;SHA-B 恒温水浴箱由常州诺基仪器有限公司提供,以上设备及试剂盒均严格按照说明书操作。

1.3 方法

1.3.1 采集标本及配置 PLT 悬液 抽取所有患者的外周静脉血 5.0 ml,通过干燥管及 EDTA-K2 抗凝管分别吸取 2.5 ml,离心取上层 2/3 富含 PLT 的血浆及上层清液待用;通过稀释冻干 PLT 直接配置 PLT 悬液。

1.3.2 区分人类 PLT 抗原及人类白细胞抗原抗体及检测 PLT 抗体 通过 0.2 mol/L 二磷酸氯喹溶液除去 PLT 表面的人类白细胞抗原(human lymphocyte antigen, HLA),然后结合未处理的 PLT 行抗体检测。按照检测量分别取出反应板条,其中每一份样本对应一份自身对照样本分别记为处理孔和未处理孔,同时增加阴性及阳性对照孔以保证研究的严谨性。分别于阴性对照孔、阳性对照孔及未处理待检孔加入 50 μl PLT 悬液,自身对照未处理孔加入自身富含 PLT 血浆 50 μl,然后再往处理后待检孔加入 PLT 悬液 50 μl,自身对照处

理孔加入自身富含 PLT 血浆 50 μl。离心 5 min 后让 PLT 充分固定在反应孔底部,充分洗涤 3 次后,于每个反应孔均加入低离子强度溶液 100 μl,同时向自身对照未处理孔、自身对照处理孔、处理待检孔、未处理待检孔加入患者 50 μl 血清,其中阴性对照孔加入阴性对照血清,阳性对照孔加入阳性对照血清,若低离子强度溶液的颜色由紫色变成青绿色或天蓝色说明操作正确,若仍为紫色溶液代表漏加患者血清。置于 37℃ 恒温箱内进行孵育 0.5 h 取出充分洗涤 4 次后,往每个反应孔加入指示细胞及抗人 IgG 各 50 μl,摇匀,离心 5 min,记录检测结果。见表 1。

表 1 PLT 抗体检测结果判定

处理孔	未处理孔结果	抗体类型
阴性	阳性	HLA 抗体
阳性	阳性	HPA 抗体
弱阳性	阳性	同时存在 HLA 抗体及 HPA 抗体
阴性	阴性	无相关抗体

1.4 统计学方法

将患者临床相关数据录入 SPSS 23.0 版统计学软件进行数据处理,其中计数资料以%表示,采用 χ^2 检验,检验水准为 $\alpha=0.05$,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 反复出血后 PLT 输注无效患者 PLT 抗体特异性检测

PLT 输注无效患者的 PLT 同种抗体检出率为 65.00%(52/80),见表 2。

表 2 反复出血后 PLT 输注无效患者 PLT 抗体特异性检测

抗体类型	阳性例数	阳性率/%
HLA 抗体	25	31.25
HPA 抗体	7	8.75
同种 HLA 及 HPA 抗体	10	12.50
HLA 抗体合计	35	43.75
HPA 抗体合计	17	21.25
总计	52	65.00

2.2 其他因素对 PLT 抗体阳性率的影响

男性患者的 PLT 抗体阳性检出率 58.33%(21/36),低于女性患者 70.45%(31/44),但差异无统计学意义($P>0.05$);不同类型输血成分中,悬浮红细胞高于少白细胞悬浮红细胞,浓缩 PLT 高于机采 PLT($P<0.05$),见表 3;PLT 抗体的数量与输血次数呈正相关($P<0.01$)。

表 3 输入不同血液成分制剂对 PLT 抗体阳性率的影响

血液成分种类	例数	阳性例数	阳性率/%
悬浮红细胞	20	14	70.00
少白细胞悬浮红细胞	25	5	25.00
机采 PLT	20	14	70.00
浓缩 PLT	20	19	95.00
合计	80	52	65.00

3 讨论

近年来随着 PLT 输注疗法的不断推广,PLT 输注无效事件也逐渐得到国内外学者们的重视,其主要临床表现为输注 PLT 之后,血液中的 PLT 不但没有上升反而出现下降的趋势,因而 PLT 抗体作为治疗出血患者的重要因素得到广泛的关注。

本研究发现反复输血后 PLT 输注无效患者的 PLT 同种抗体检出率为 65.00%,其中同种 HLA、HPA 抗体阳性率分别为 43.75%、21.25%,且 58.82% HPA 抗体阳性患者同时被检出 HLA 阳性;PLT 自身抗体阳性检出率是 12.50%。男性患者的 PLT 抗体阳性检出率 58.33%,低于女性患者 70.45%,但差异无统计学意义($P > 0.05$);不同类型输血成分中,悬浮红细胞 70.00%,高于少白细胞悬浮红细胞 25.00%,浓缩 PLT 95.00%,高于单采 PLT 70.00%($P < 0.05$);PLT 抗体的数量与输血次数呈正相关($P < 0.01$),与相关研究结果一致^[3-4]。以上说明不同类型输血成分抗体阳性率随输注次数的增多而增多,输注 PLT 后 PLT 抗体产生概率主要有输注次数决定,输注次数越多抗体产生概率越大。因 PLT 表面含有 HLA 抗原和 PLT 特异性抗原有关,其在白细胞表面表达更加丰富,故当供受双方存在上述抗原差异时提供者白细胞和 PLT 均可刺激受血者产生 HLA 抗原,HPV 为 PLT 特异性抗原,白细胞表面不表达,所以提供者不能诱导接受者提供 HPV 抗体。有研究指出输注 PLT 次数低于 2 次者其 PLT 抗体阳性率仅为 6.5%,而输注次数超过 3 次者其 PLT 抗体阳性率将高达 60.5%^[5]。因此反复输血后 PLT 输注无效的概率将大幅提高,故临床上进行输血治疗时必须严格掌握输血指征,充分有效评估输血后的情况,降低不必要的输血治疗,减少 PLT 无效输入的非免疫因素,降低由反复输血引起的 PLT 输注无效事件的发生。

目前临床上主要认为 PLT 输注无效事件主要

来源于非免疫及免疫两大因素,其中免疫因素主要是 HPA 抗原不合、HLA 抗原不合及 ABO 血型抗原不合,非免疫因素则主要是感染。发热、出血、脾肿大、药物或者 DIC 等^[6]。临床上配血之前大都采用 ABO 交叉配血,故由 ABO 血型系统抗体导致的 PLT 输注无效事件的发生率极低,而 HPA 抗原不合、HLA 抗原不合则更为常见,据有关统计显示 HLA 抗原不合占有免疫因素的 80.0%,而 HPA 抗原不合约占 8.7%^[7-8],与本研究结果相似。本研究中仍发现少部分患者没有检测出 HPA 抗原不合或 HLA 抗原不合,但仍然出现 PLT 输注无效事件的发生,由此推测是由非免疫因素引起。

综上所述,反复输血后 PLT 输注无效患者以同种 HLA、HPA 抗体最为常见,且 PLT 抗体的数量与输血次数呈正相关,同时与输血成分的不同与产生的 PLT 抗体有着密不可分的联系。

参考文献

- [1] 顾萍,王静,张帆,等. PLT 膜糖蛋白 II b/III a 基因多态性与 PLT 输注疗效的关系[J]. 检验医学,2013,28(9):770-774.
- [2] 张秋会,张婧,刘丽娜,等. 多次输血后患者 PLT 输注无效的 PLT 抗体检测与分析[J]. 临床输血与检验,2015,17(5):409-412.
- [3] 宋文倩,Schulze TJ,Baade M,等. 联合分析 PLT 特异性抗体和瞬逝生物传感器技术检测 PLT 抗体的方法比较[J]. 国际免疫学杂志,2017,40(1):31-36.
- [4] 徐煜,吴林伯,吴芳,等. 血液病反复输血者 PLT 抗体对 PLT 输注效果的影响[J]. 河北医学,2016,22(6):931-933.
- [5] 高颀,蒋祖军. 羊蹄根对免疫性 PLT 减少性紫癜模型小鼠转化生长因子- $\beta 1$ 及其受体的影响[J]. 河北医学,2017,23(5):741-744.
- [6] Zhou SH,Liang XH,Shao LN,et al. Association of human platelet antigens polymorphisms with susceptibility to hepatitis C virus infection in Chinese population[J]. Int J Immunogenet,2017,44:337-342.
- [7] Chen L,Liu Z,Liu T,et al. Neonatal alloimmune thrombocytopenia caused by anti-HPA antibodies in pregnant Chinese women:a study protocol for a multicentre,prospective cohort trial[J]. BMC Pregnancy Childbirth,2017,17:281.
- [8] 孙莉,李明华,叶海辉. 108 例免疫因素所致 PLT 输注无效的临床分析[J]. 现代预防医学,2015,42(16):3054-3056.

(收稿日期:2019-11-05)