

• 论 著 •

血液病反复输血患者血小板抗体、交叉配型结果与血小板输注效果的相关性分析

许云波,张 静[△]

(南京大学医学院附属鼓楼医学输血科,江苏南京 210008)

摘 要:**目的** 探讨血液病反复输血患者血小板抗体、交叉配型试验结果与血小板输注效果的关系。**方法** 回顾性分析 112 例血液病反复输血患者临床资料,根据入院时血小板抗体检验结果将其分为阳性组与阴性组,配型到阴性或弱阳性供者标本纳入相合亚组,多次配型均为阳性供者标本纳入不合亚组。比较阳性组与阴性组首次输注后,相合亚组与不合亚组本次输注后,1 h、24 h 血小板校正增高计数(CCI)及血小板回收率(PPR)差异,采用 Spearman 相关系数模型分析 1 h、24 h 血小板 CCI 及 PPR 与血小板抗体检验、交叉配型试验结果的相关性。**结果** 阳性组 1 h CCI、24 h CCI、1 h PPR、24 h PPR 水平均明显低于阴性组($P<0.05$),相合亚组 1 h CCI、24 h CCI、1 h PPR、24 h PPR 水平均明显高于不合亚组($P<0.05$)。血小板抗体测试结果与 1 h CCI、24 h CCI、1 h PPR、24 h PPR 水平均呈显著负相关($P<0.05$);交叉配型试验结果与 1 h CCI、24 h CCI、1 h PPR、24 h PPR 水平均呈显著正相关($P<0.05$)。**结论** 血小板抗体检测及交叉配型结果与反复输血患者血小板输注效果关系较为密切,临床需积极开展上述试验以避免不必要的血小板资源浪费。

关键词:反复输血; 血小板抗体检测; 血小板交叉配型试验; 输注效果

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2020.03.017

中图法分类号:R457.1

文章编号:1673-4130(2020)03-0323-04

文献标识码:A

Correlation analysis of platelet antibody, cross matching and platelet transfusion in patients with hematopathy

XU Yunbo, ZHANG Jing[△]

(Department of Blood Transfusion, Nanjing Drum Tower Hospital Affiliated to Hospital Medical College of Nanjing University, Nanjing, Jiangsu 210008, China)

Abstract: Objective To explore the relationship between platelet antibody and cross-matching test results and platelet transfusion effects in patients with hemopathy and repeated blood transfusion. **Methods** The clinical data of 112 patients with hemopathy and repeated blood transfusions were retrospectively analyzed. According to the results of platelet antibody test at admission, they were divided into positive group and negative group. And the donor specimens matched as the negative or weak-positive were included in matching subgroup, and donor samples repeatedly matched as positive were included in mismatching subgroup. 1 h and 24 h platelet corrected count increment(CCI) and platelet recovery(PPR) were compared between positive group and negative group after the first transfusion and between matching subgroup and mismatching subgroup after this transfusion. Spearman correlation coefficient model was used to analyze the correlation between 1 h and 24 h platelet CCI and PPR and results of platelet antibody test and cross-matching test. **Results** The levels of 1 h CCI, 24 h CCI, 1 h PPR and 24 h PPR in positive group were significantly lower than those in negative group ($P<0.05$), and the levels of 1 h CCI, 24 h CCI, 1 h PPR and 24 h PPR in matching subgroup were significantly higher than those in mismatching subgroup ($P<0.05$). Platelet antibody test results were significantly negatively correlated with 1 h CCI, 24 h CCI, 1 h PPR and 24 h PPR ($P<0.05$). Cross-matching test results were significantly positively correlated with 1 h CCI, 24 h CCI, 1 h PPR and 24 h PPR ($P<0.05$). **Conclusion** The results of platelet antibody test and cross-matching are closely related to the platelet transfusion effects in patients with repeated blood transfusion. The above-mentioned tests should be actively carried out to avoid un-

作者简介:许云波,男,主管技师,主要从事血液病反复输血方面的研究。 [△] **通信作者,** E-mail: pretty189@163.com。

本文引用格式:许云波,张静. 血液病反复输血患者血小板抗体、交叉配型结果与血小板输注效果的相关性分析[J]. 国际检验医学杂志, 2020, 41(3): 323-326.

necessary waste of platelet resources in clinical application.

Key words: repeated blood transfusion; platelet antibody test; platelet cross-matching test; transfusion effects

血小板作为骨髓巨核细胞微小胞质,是凝血系统不可或缺的组成部分,近年来随着成分输血治疗的不断推广实践,血小板输注已成为预防或改善部分血液病的重要策略^[1]。然而血小板输注属于典型的异体移植疗法,不可避免将引起免疫反应,患者通常需要多次输注血小板,机体将因此产生血小板抗体,从而导致血小板输注无效(PTR),不仅血液病病情无法缓解,还将继发输血相关急性肺损伤^[2],对其生命安全构成严重威胁。目前临床主要通过白细胞过滤、血浆置换、 γ 射线辐照、大剂量丙种球蛋白注射及血小板抗原修饰等方法对 PTR 进行治疗^[3],但实际应用有一定困难,疗效稳定性也欠佳,因而血小板输注前开展筛查与鉴定工作尤为关键。本研究旨在分析血小板抗体检测与交叉配型试验对血液病反复输血患者血小板输注效果的影响,报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 回顾性分析 2018 年 1—12 月,于本院进行输注血小板治疗的 112 例血液病多次输血患者临床资料,纳入标准:(1)符合各血液病相关诊断标准^[4];(2)年龄为 20~74 岁;(3)外周血小板计数 $\leq 50 \times 10^9$ 个/L,且伴有明显出血倾向;(4)知晓血小板反复输注风险并同意实施各项检查。排除标准:(1)伴有感染、发热、脾大等体征;(2)合并自身免疫性疾病或颅内出血、弥散性血管内凝血;(3)任何外科因素、药物因素引起输血需求;(4)妊娠期或哺乳期妇女。其中男性 62 例,女性 50 例;年龄为 20~74 岁,平均 (47.33 ± 15.28) 岁;急性白血病 53 例,慢性粒细胞白血病 2 例,再生障碍性贫血 11 例,特发性血小板减少性紫癜 5 例,多发性骨髓瘤 12 例,骨髓异常增生综合征 7 例,淋巴瘤 22 例。根据入院时血小板抗体检验结果将其分为阳性组($n=44$)与阴性组(阴性+弱阳性, $n=68$),治疗期间输注血小板 789 次,依照每次输注前交叉配型试验结果,配型到阴性或弱阳性供者标本纳入相合亚组(例次数=453),多次配型均为阳性供者标本纳入不合亚组(例次数=336)。本研究经医院伦理委员会批准。

1.2 方法

1.2.1 血小板抗体检测方法 常规采集患者肘前静脉血样 5 mL 于枸橼酸钠抗凝管,3 000 r/min 转速下离心 5 min 后提取上层血浆,冷冻于 -20°C 冰箱;运用 FRBIOME 血小板抗体固相凝集法检测试剂盒按说明书操作,用全自动酶标洗板机洗涤。取出反应板条,标记待测孔及阳性、阴性对照孔,未使用板条密封

储存于 $2\sim 8^\circ\text{C}$ 干燥环境,反应孔中滴加 50 μL 冻干血小板以生理盐水稀释悬液轻摇 10 s;平板式离心机 50 r/min 加速度离心 5 min,全自动洗板机加工作洗涤液清洗 3 次;滴加 100 μL 低离子强度溶液后,加入患者待测血浆样品及阳性、阴性对对照样 50 μL ,待溶变色后密封并通过湿盒在 37°C 水浴中温育 30 min;弃去封口胶并洗涤反应板条 5 次,在 200 r/min 加速度下离心 5 min,判读待测孔检测结果。判读标准:指示红细胞平铺在反应孔底部表面为阳性;指示红细胞只结合到部分孔底,并且结合的区域比阴性对照略大为弱阳性;指示红细胞在反应孔底部中央形成红细胞聚集为阴性。

1.2.2 交叉配型试验方法 将与患者红细胞抗原 ABO 型一致的供者血小板制备成悬液,保持其水平在 $50 \times 10^9 \sim 150 \times 10^9/\text{L}$ 范围内,8 h 内完成交叉配型试验;试验过程将血小板抗体检测冻干血小板悬液替代为供者血小板悬液即可,每一个患者跟若干 ABO 同型血小板交叉配型,结果有阴性或弱阳性时纳入相合亚组,给予阴性或弱阳性血小板治疗;而多个供者血小板均获得阳性者视为配型失败,纳入不合亚组,输注阳性最弱的小血小板治疗。

1.2.3 输注治疗方法 单采血小板供体来自南京市红十字血液中心,每个治疗量的血小板容量 250~300 mL,血小板水平 $\geq 2.5 \times 10^{11}$ 个,输注后 1、24 h 进行疗效观察。

1.2.4 观察指标 于输注血小板后 1 h、24 h 时,测定患者血小板校正增高计数(CCI)及血小板回收率(PPR),计算公式: $\text{CCI} = \text{输注后血小板增加值}(\text{I}) \times \text{体表面积}(\text{m}^2) / \text{输注血小板总数}(\times 10^{11})$,其中体表面积 $= 0.0128 \times \text{体质量}(\text{kg}) + 0.61 \times \text{身高}(\text{m}) - 0.01529$, $\text{PPR} = \text{输注后血小板增加值}(\text{I}) \times \text{全血容量}(\text{L}) / \text{输注血小板总数} \times 1.5$;比较阳性组与阴性组患者入院后首次输注血小板后 1 h CCI、24 h CCI、1 h PPR、24 h PPR 水平差异,比较相合亚组与不合亚组患者每次输注血小板后 1 h CCI、24 h CCI、1 h PPR、24 h PPR 水平差异。

1.3 统计学处理 将数据录入统计学软件 MedCalc 18.2 进行分析,计量资料先实施方差齐性与正态性检验,均证实具备方差齐性而且近似服从正态分布,以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组/亚组间比较采用独立样本 t 检验;相关性分析采用 Spearman 相关系数模型,赋值:阳性组=1,阴性组=0,相合亚组=1,不合亚组=0;设定检验水准 $\alpha=0.05$, $P<0.05$ 表示差异有统计学意义或存

在显著 Spearman 相关性。

2 结 果

2.1 阳性组与阴性组血小板输注效果比较 阳性组 1 h CCI、24 h CCI、1 h PPR、24 h PPR 水平均明显低于阴性组,差异均有统计学意义($P<0.05$),见表 1。

表 1 阳性组与阴性组首次输注后 1 h、24 h CCI 及 PPR 水平比较($\bar{x}\pm s$)					
组别	<i>n</i>	1 h CCI ($\times 10^9/L$)	24 h CCI ($\times 10^9/L$)	1 h PPR (%)	24 h PPR (%)
阳性组	44	19.37±2.45	6.75±1.52	14.33±2.49	3.23±1.17
阴性组	68	37.23±4.63	19.55±2.25	36.49±5.31	15.09±3.28
<i>t</i>		23.535	33.175	25.877	23.013
<i>P</i>		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

2.2 相合亚组与不合亚组血小板输注效果比较 相合亚组 1 h CCI、24 h CCI、1 h PPR、24 h PPR 水平均明显高于不合亚组,差异均有统计学意义($P<0.05$),

见表 2。

表 2 相合亚组与不合亚组每次输注后 1h、24h CCI 及 PPR 水平比较($\bar{x}\pm s$)					
亚组别	<i>n</i>	1 h CCI ($\times 10^9/L$)	24 h CCI ($\times 10^9/L$)	1 h PPR (%)	24 h PPR (%)
相合亚组	453	9.94±3.03	5.87±1.88	25.14±4.75	19.04±4.47
不合亚组	336	7.63±2.35	3.17±1.06	14.64±4.10	11.96±3.72
<i>t</i>		11.620	23.679	32.518	23.597
<i>P</i>		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

2.3 相关性分析结果 Spearman 相关系数模型分析结果显示,血小板抗体测试结果与 1 h CCI、24 h CCI、1 h PPR、24 h PPR 水平均呈显著负相关($P<0.05$);交叉配型试验结果与 1 h CCI、24 h CCI、1 h PPR、24 h PPR 水平均呈显著正相关($P<0.05$),见表 3。

表 3 Spearman 相关系数模型分析结果参数						
试验结果	血小板抗体测试			交叉配型试验		
	<i>r</i>	<i>P</i>	95%CI	<i>r</i>	<i>P</i>	95%CI
1 h CCI	-0.843	<0.001	-0.891~-0.778	0.394	<0.001	0.296~0.484
24 h CCI	-0.846	<0.001	-0.893~-0.781	0.675	<0.001	0.610~0.732
1 h PPR	-0.846	<0.001	-0.893~-0.781	0.78	<0.001	0.732~0.820
24 h PPR	-0.846	<0.001	-0.893~-0.781	0.659	<0.001	0.591~0.718

3 讨 论

既往研究对红细胞 ABO、Rh 系统血型鉴定及抗原遗传多态性的分析已较为完善,与输注效果之间的关系也已获得临床共识,但血小板抗体的研究多局限于免疫性因素,且与输注效果之间尚无大样本量研究用以建立确切联系,对此,本研究作出如下讨论。

病理学研究多认为血小板输注出现 PTR 主要由免疫因素或非免疫因素所引起,其中非免疫因素主要包括药物、感染、高热、脾亢及脾切除术等,通过对症干预消除影响可迅速使 PTR 获得控制,进一步增加血小板输注量也可令效果得以明显改观^[5-6]。然而免疫因素导致的 PTR 则属于相对棘手的血小板输注并发症,临床多推荐建立血小板抗体的供者资料库,通过大样本检索寻找完全匹配的血小板资源,理论上 80% 患者均可获得完美匹配的献血者^[7-8],但由于该方案需投入大量人员、设备及运营环境,仅在大型血液中心与高等医院共同协作方可实现,故其仍是临床亟待解决的重要课题。血小板输注令机体产生抗体类型主要包括人类白细胞抗原(HLA)抗体、血小板特异性抗原(HPA)抗体及红细胞 ABO 血型抗体等,中

国大部分地区由于缺乏完善的抗体供者库,仍采取传统的 ABO 同型血小板输注,而临床目前通过血细胞过滤器处理血小板制剂,有效清除其所含白细胞,也一定程度避免 HLA 抗体导致的 PTR^[9-10];HPA 抗体仍有赖于输注前检测,由于相对其他血液成分抗体检测更为困难,临床试验务必确保测试技术的灵敏度与特异度。尽管以免疫印迹法、放射免疫法及固相凝集法为代表的传统血清学检验措施准确度不如新兴的基因分子学分型方案,但由于其具有廉价、简便、迅速等特点,仍是不可或缺的检测途径^[11]。本研究结果显示,阳性组 1 h CCI、24 h CCI、1 h PPR、24 h PPR 水平均明显低于阴性组,这与陈兰兰等^[12]的研究结果相似,且本研究还在其基础上发现上述指标水平与血小板抗体测试结果均呈显著负相关,这表明血小板抗体测试阳性患者血小板输注效果明显较差。为确保输注治疗的安全性与有效性,需引起临床足够重视。本研究表明,阳性组患者选取交叉配型试验阳性最弱的供者血小板进行治疗,通过预先在无菌环境滤除血液制品中的白细胞,并选择性给予大剂量静注免疫球蛋白,仍可获得良好的输注效果,能为临床 PTR 防治工

作提供参考。

据相关文献报道,血小板输注患者原则上需同红细胞输注患者一样预先进行交叉配型试验,以确保输注的有效性,但不同于红细胞抗原,由于血小板抗原具有高度多态性^[13-14],加之异体血小板寿命相对较短,机体清除效率更高,对患者产生的不良影响不足以扩大^[16],因此就绝大多数患者而言,单次输注血小板产生免疫反应概率较低,随机提供血小板便可满足输注治疗的有效性与安全性。然而部分研究发现,血小板输注次数<4次、4~6次及>6次的有效率分别为70.00%、66.67%及37.14%^[13],差异有统计学意义,故针对反复输血患者,输注次数增多的同时,将导致机体产生血小板抗体的几率随之增大,输注效果则随之降低,可知多次输血患者应谨慎考虑血小板抗体类型。本研究中,相合亚组1h CCI、24h CCI、1h PPR、24h PPR水平均明显高于不合亚组,且其水平与交叉配型试验结果均表现为明显正相关,故交叉配型试验相合患者多次血小板输注效果更佳,提示反复输血患者有必要在每次输注前对供者血小板进行鉴定,避免引起PTR延误患者治疗而进一步加重其经济与心理负担。国内外报道认为,由于抗体生成具有暂时性,交叉配型仅能保证当次输注血小板有效,无法避免再次输注时机体受到刺激是否产生不同抗体,通常无法彻底消除PTR发生可能性,需要经常实施交叉配型试验^[17-20],因而寻求ABO、HLA、HPA血型均相合的单一血小板仍是目前临床追求的解决目标。

4 结 论

既往研究较少探讨对反复输血患者血小板配型情况与输注效果之间的联系。而本研究则通过相关性分析获悉,以血小板抗体检测与交叉配型试验结果为指导,均可对反复输血患者血小板输注效果产生正面影响。因此,建议有多次输血需求的血液病患者预先实施血小板抗体检测及交叉配型试验,可有效改善血小板输注的安全性与有效性,促进临床治疗与血液资源分配更加科学化。

参考文献

- [1] 胡文静,叶盛,费荣,等.血液病患者预防性血小板输注的研究进展[J].临床血液学杂志,2016,29(1):86-88.
- [2] 喻文,罗红敏.抗血小板治疗对危重病患者病死率和急性肺损伤的影响:一项系统评价和荟萃分析[J].中华危重病急救医学,2016,28(11):1052-1052.
- [3] 杜春红,徐佩琦,李红学.血小板输注无效相关因素的研究进展[J].临床输血与检验,2016,18(1):86-90.
- [4] 张之南,沈悌.血液病诊断及疗效标准(第3版)[M].北京:科学出版社,2007:47.
- [5] GOUYA G,ARRICH J,WOLZT M,et al. Antiplatelet

treatment for prevention of cerebrovascular events in patients with vascular diseases:a systematic review and meta-analysis[J]. Stroke,2014,45(2):492-503.

- [6] 周映君,韦喜敢,周建月,等.血液病患者血小板输注无效病因探析[J].检验医学与临床,2016,13(11):1580-1582.
- [7] 刘丙现,刘雨佳,高广平,等.血小板抗原基因分型与配型在血小板输注中的应用[J].中国实验血液学杂志,2014,22(1):199-203.
- [8] VASSALLO R R,NORRIS P J. Can we "terminate" allo-immune platelet transfusion refractoriness? [J]. Transfusion,2016,56(1):19-22.
- [9] 许珣,管政,汤博悦.血小板型去白细胞滤器的临床应用[J].中华全科医学,2015,13(10):1684-1686.
- [10] SEMANČIKOVÁ E,TKÁČIKOVÁ S,TALIAN I,et al. Comparison of sample preparation protocols for the analysis of the human platelet proteome from whole blood [J]. Analytical Letters,2017,50(8):1521-1530.
- [11] 陈羨英,王玮,严政威,等.血浆B7-H2、B7-H3、血小板自身抗体与免疫性血小板减少性紫癜的相关性研究[J].蚌埠医学院学报,2018,43(2):239-241.
- [12] 陈兰兰,车进,张燕华,等.临床患者首次进行血小板交叉配型试验的结果分析[J].中国输血杂志,2017,30(2):148-150.
- [13] 陈语嫣,龚祖康,林文珍.中国地区汉族人类血小板抗原基因多态性研究[J].基因组学与应用生物学,2017,36(2):433-444.
- [14] 张维.血小板配型成功输注后患者的疗效随访[J].临床输血与检验,2015,17(2):158-159.
- [15] 谢军花,叶菲,吴莉莉,等.血小板输注无效的回顾性调查分析[J].临床血液学杂志(输血与检验),2016,29(4):661-663.
- [16] 张趁利,庞桂芝,娄白敏,等.新乡地区临床患者的血小板抗体检测及配型的疗效分析[J].临床血液学杂志(输血与检验),2014,27(5):871-873.
- [17] 许金华,李剑平.血小板交叉配型和基因分型在血小板输注无效中的应用[J].中国输血杂志,2015,28(6):651-654.
- [18] RIOUX-MASSÉ B,COHN C,LINDGREN B,et al. Utilization of cross-matched or HLA-matched platelets for patients refractory to platelet transfusion[J]. Transfusion,2014,54(12):3080.
- [19] SAYED D,BAKRY R,ELSHARKAWY N,et al. Flow cytometric platelet cross-matching to predict platelet transfusion in acute leukemia. [J]. J Clin Apher,2015,26(1):23-28.
- [20] KUMAR A,MHASKAR R,GROSSMAN B J,et al. Platelet transfusion;a systematic review of the clinical evidence[J]. Transfusion,2015,55(5):1116-1127.