

• 专家共识 •

血小板抗体检测专家共识

中国医师协会输血科医师分会 中华医学会临床输血学分会

【关键词】 血小板抗体 临床输血 专家共识

【中图分类号】 R457.1 R446.6 【文献标识码】 A 【文章编号】 1671-2587 (2020) 01-0001-05

2016年7月25日,经国家标准化管理委员会批准,输血医学增设为临床医学二级学科。输血医学的重要职能就是保障和指导临床安全、科学、精准输血,减少输血不良反应。

血小板具有复杂的抗原系统,包括与其它组织或细胞所共有的抗原,如ABO血型系统抗原和人类白细胞抗原(human leukocyte antigen, HLA);血小板特异性抗原(human platelet antigen, HPA);与单核/巨噬细胞及有核红细胞共有的GPⅣ/CD36抗原等。妊娠、输血、器官移植等均可诱导机体产生血小板抗体,包括HLA抗体、HPA抗体和CD36抗体等。这些抗体可以引起免疫性血小板输注无效(platelet transfusion refractoriness, PTR)、胎儿和新生儿同种免疫性血小板减少症(fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia, FNAIT)、非溶血性发热性输血反应(febrile non-haemolytic transfusion reaction, FNHTR)、输血后紫癜(post-transfusion purpura, PTP)等^[1-4]。

红细胞抗体已经成为临床输血前免疫学检测的常规项目,而输血前血小板抗体检测并未得到临床充分重视。目前,血小板输注的策略主要采用随机输注方式,反复输血及多次妊娠者容易产生血小板抗体,引起PTR、FNAIT等疾病,以及FNHTR、PTP等输血不良反应。为保障临床输血安全和疗效,预防PTR和输血不良反应,节约血液资源,诊断血小板抗体相关免疫性疾病,现形成血小板抗体检测专家共识,内容如下。

1 血小板抗体检测的临床意义

1.1 免疫性血小板输注无效(PTR)诊断:血小板

DOI: 10.3969/j.issn.1671-2587.2020.01.001

血小板抗体检测专家共识专家委员会顾问:刘景汉(中国人民解放军第一医学中心)

执笔作者:魏亚明(华南理工大学附属第二医院、广州市第一人民医院)、桂嵘(中南大学湘雅三医院)、王秋实(中国医科大学附属盛京医院)、刘志伟(浙江大学附属邵逸夫医院)

通信作者:魏亚明,男,博士,研究员,主任技师,主要从事临床输血与细胞治疗,(E-mail) weiyaming@163.com。

抗体是免疫性PTR的主要原因。一般患者输注血小板后血小板抗体的阳性率为8.2%~60.0%^[2-7],肿瘤患者和干细胞移植患者血小板抗体阳性率为12.6%~66.0%^[8-10],这些抗体是导致免疫性PTR的主要因素。对患者进行血小板抗体筛查和鉴定,可以诊断免疫性PTR。对血小板抗体阳性患者输注血小板交叉配合的血小板,可有效预防免疫性PTR。

1.2 HLA抗体导致FNHTR诊断:FNHTR在输血反应中占比最大,输注红细胞的FNHTR的发生率约为0.08%~6.0%^[11, 12],输注血小板FNHTR的发生率可高达20.3%~70.0%^[13-15]。FNHTR主要由HLA抗体引起。HLA抗体引起的FNHTR约占总输血反应的14.6%,是引起血小板配血不合和PTR的主要原因^[13-18]。输血前对患者常规检测血小板抗体筛查和鉴定,可以诊断HLA抗体引起的FNHTR。同时,为血小板抗体阳性患者提供HLA配型相合的血小板,输注白细胞去除的红细胞、血小板,不但可以预防PTR,而且可预防FNHTR。

1.3 胎儿和新生儿同种免疫性血小板减少症(FNAIT)诊断:FNAIT是由于胎儿与其母体血小板抗原不相容,来自母体的IgG血小板抗体作用于胎儿血小板引起血小板破坏的同种免疫性疾病,其主要风险是胎儿宫内死亡或颅内出血,是新生儿严重血小板减少症的常见原因,发病率为0.05%-0.15%^[19-21],第1胎就可以发病^[4, 20, 22-26]。患儿母亲存在针对胎儿血小板抗原的抗体是FNAIT的实验室诊断依据。通过孕晚期产前常规检测母体血清或血浆中血小板抗体及效价,可诊断FNAIT并及时给出治疗建议。

1.4 输血后紫癜(PTP)诊断:PTP是一种少见的血小板输注后不良反应,在输注血小板制品3~12天后,突然出现严重的血小板减少,临床上可出现皮肤淤点、淤斑和粘膜出血等症状,主要发生于有输血史或孕产史的患者,输血患者的发生率是0.001%~0.002%^[4, 27, 28]。血小板抗体筛查和鉴定可诊断PTP,通过血小板配型为患者输注配合的血小板可预防和治疗PTP。

1.5 其他与血小板抗体相关疾病的辅助诊断

1.5.1 原因不明性反复流产的辅助诊断：原因不明性反复流产患者中HLA抗体与活产率降低相关。孕妇中HLA抗体阳性率为3.7%~5.6%，经产妇及有早期流产史者的HLA阳性率可达11.4%~25.0%^[29, 30]。HPA抗体也可致流产，孕妇IgG类HPA抗体进入HPA不相合胎儿体内不仅可导致胎儿血小板加速破坏^[31]，其中抗-GPIIb/IIIa还可导致胎盘发生广泛的纤维蛋白沉积，并严重损害胎盘功能和血液灌注，激活血小板，诱导磷脂酰丝氨酸表达，导致血栓形成，进而导致胎儿自然流产^[32]。抗-β3整合素影响胎盘和胎儿血管生成，导致胎儿颅内出血^[33]。因此，对于有反复流产史的妇女，进行HLA和HPA抗体筛查和鉴定，有助于查明流产原因和治疗。

1.5.2 原发性免疫性血小板减少性紫癜（ITP）的辅助诊断：原发性免疫性血小板减少性紫癜（idiopathic thrombocytopenic purpura, ITP）的发病机制主要是血小板抗体介导了血小板破坏及血小板减少。51.7%~63.5%免疫性血小板减少性疾病患者血小板抗体为阳性，而普通患者血小板抗体阳性率仅为4.9%~15.2%^[34-36]。检测患者自身血小板抗体及效价，可辅助诊断ITP。

1.5.3 继发性免疫性血小板减少性紫癜（SITP）的辅助诊断：继发性免疫性血小板减少性紫癜（secondary immune thrombocytopenic purpura, SITP）是一类与免疫系统紊乱相关的自身免疫性疾病，可由于持续感染、淋巴组织增生、骨髓增生性疾病、妊娠、免疫缺陷和自身免疫性疾病引起；也可以是药物诱导的自身免疫性疾病，目前已知有百余种药物可免疫性介导血小板破坏，常见的药物有：青霉素、头孢菌素、红霉素、万古霉素、磺胺类、GP IIb/IIIa拮抗剂等药物可诱导机体产生药物依赖性和非药物依赖性血小板抗体，SITP是这些药物治疗的并发症^[4]。非药物依赖性血小板抗体与其他血小板自身抗体在血清学上难以区分。药物诱导的血小板抗体通常在停药后很快消失。检测血小板抗体可为SITP的诊断和治疗提供依据。

2 血小板抗体检测对象 为保障患者输血疗效与安全，辅助诊断血小板免疫性相关疾病，经中国医师协会输血科医师分会和中华医学会临床输血学分会部分输血专家团队以及和相关临床科室专家认真研讨，一致认为应对以下患者进行血小板抗体检测：

2.1 血小板输注患者；

2.2 FNHTR患者；

2.3 有输血史、妊娠史、器官移植、血液病、自身免疫性疾病、肿瘤等需要输血患者；

2.4 ITP、SITP、PTP患者；

2.5 不明原因性反复流产患者；

2.6 可疑FNAIT妊娠患者；

2.7 血小板计数降低原因不明患者；

2.8 其它输血不良反应（如输血相关急性肺损伤等）的原因调查患者。

3 血小板抗体检测内容

3.1 HLA抗体：如果患者HLA抗体阳性，应做血小板交叉配型，输注交叉配型阴性血小板；有条件的应做供、受者HLA分型，首选HLA抗体相应抗原阴性ABO同型的小血小板输注，次选HLA抗体相应抗原阴性ABO相容的小血小板输注。

3.2 HPA抗体：如果患者HPA抗体阳性时，应做血小板交叉配型，输注交叉配型阴性血小板；有条件者应开展供、受者HPA分型，首选HPA抗体相应抗原阴性ABO同型的小血小板输注，次选HPA抗体相应抗原阴性ABO相容的小血小板输注。

3.3 HLA与HPA同时阳性：如果患者HLA与HPA抗体同时阳性，应做血小板交叉配型，输注交叉配型阴性血小板；有条件者应对供、受者进行HLA与HPA分型，首选HLA与HPA抗体相应抗原阴性ABO同型的小血小板输注，次选HLA与HPA抗体相应抗原阴性ABO相容的小血小板输注。

3.4 有条件可开展CD36及其他血小板抗体检测，并为抗体阳性患者输注CD36等相应抗原阴性血小板。

3.5 有条件的单位可进一步对供者血小板抗体（donor platelet specific antibody, DPSA）进行检测，预防输血相关急性肺损伤，拒绝血小板抗体阳性供者血液成份输注给患者。

4 血小板抗体检测标本

4.1 标本要求：采集血清或枸橼酸钠、EDTA抗凝的血浆。无溶血、脂血和黄疸等。

4.2 标本量：全血5 mL左右。

5 血小板抗体检测结果判定

5.1 阳性：被检标本中含有HLA抗体和/或HPA抗体和/或CD36抗体。

临床输血意义：血小板应配型相合后输注；红细胞血液成分应去白后相容性输注。

5.2 阴性：被检标本中未检出血小板抗体。

临床输血意义：红细胞交叉配血相合后输注；血小板、血浆、冷沉淀ABO同型或相容即可输注。

5.3 对照：按照试剂说明书要求设置阴阳性对照，一般应阳性对照：阳性；阴性对照：阴性。

6 血小板抗体检测推荐方法（具体检测步骤应以试剂

说明书为准)

6.1 固相凝集法 (solid-phase red cell adherence, SPRCA): 将供者含血小板的血浆加入微量板, 使供者血小板固定在孔底, 与患者被检血清反应, 以抗IgG致敏的红细胞指示反应结果。如果患者血浆(血清)中无血小板抗体, 则指示红细胞聚集在反应孔底部中央, 形成细胞扣, 为阴性结果; 如果患者血浆(血清)中有血小板抗体, 则指示红细胞均匀分散黏附在反应孔底部表面, 无细胞扣形成, 为阳性结果。

6.2 单克隆抗体特异性血小板抗原捕获法 (monoclonal antibody immobilization of platelet antigen assay, MAIPA): 将单克隆抗体特异性血小板抗原固定, 然后用待检血清与之反应, 以此来鉴定血小板特异性抗体, 为临床上鉴别免疫性与非免疫性血小板减少提供了特异性诊断方法, 可以定量测定血小板抗体。此方法敏感度高、特异性强。

6.3 抗原捕获酶免疫吸附试验 (modified antigen capture ELISA, MACE): 将患者致敏血小板与单克隆的HLA-I抗体和HPA的GPIIb/IIIa、GPIa/IIa、GPIb/IX、GPIV抗体反应, 然后加抗人IgG反应、显色, 终止反应后在特定波长下检测吸光度值, 结果等于或大于2倍阴性对照值的结果即为阳性。此方法特异性较高, 可以检测对HPA、HLA的IgG抗体, 适用于确诊实验和区分血小板抗体类型。

6.4 流式细胞术 (flow cytometry, FCM): 将待测血清或血小板和荧光标记的已知型别的血小板抗原或抗体孵育后, 用流式细胞仪检测结合抗体的荧光强度, 以此确定血小板抗原、抗体的特异性, 是一种快速、可靠的检测血小板反应性抗体的方法。

6.5 Luminex免疫磁珠法 (luminex bead arrays): 将待检血清与包被了特异性抗原的微珠加入到微孔板中, 经过孵育, 若血清中存在血小板抗体则可与微珠上的抗原结合, 洗涤除去没有结合的抗体或其他杂质, 再加入PE标记的二抗染色, 孵育后, 通过Luminex平台获取血小板抗原抗体特异性结合微珠的荧光信号, 再利用软件分析得到特异性抗体类型。目前该技术主要应用于科研。

6.6 免疫印迹法 (immunoblotting test, IBT): 将已知抗原的血小板溶解后电泳分离, 转移到纤维素等膜上后与受检血清杂交, 然后加入标记的抗IgG抗体, 检测是否存在相应的血小板抗体。

6.7 放射性同位素标记法 (radioisotope labeling method, RILT): 使用放射性同位素标记的血小板膜蛋白, 与受检血清结合, 电泳分离后采用自身显影原理

检测是否存在血小板抗体。

6.8 微柱凝胶法 (microcolumn gel immunoassay, MGI): 加入待检血清、血小板和指示红细胞至微柱凝胶中, 指示红细胞上包被有动物抗人血小板抗体, 该抗体Fc段结合在指示红细胞膜上, Fab段与血小板结合, 如果待检者血清中存在抗血小板抗体, 该抗体Fab段也与血小板结合, 相邻的抗体Fc段通过抗人球蛋白搭桥连接成网络状凝集复合物, 通过离心, 指示红细胞复合物浮于凝胶表面或位于胶中为阳性, 红细胞沉于微柱凝胶管底部为阴性。

6.9 其他有效的检测方法。

7 血小板抗体检测质量控制

7.1 使用国家药品监督管理部门批准的试剂和相应的质控品。

7.2 有条件应参加室间质评。

7.3 每次检测均应按照试剂盒说明书设置阳性对照和阴性对照, 阳性对照血清结果呈阳性, 阴性对照血清呈阴性, 实验结果认定为有效。

本共识专家委员会由中国医师协输血科医师分会、中华医学会临床输血学分会牵头, 由全国各地输血及临床专家组成, 专家名单如下(并列共识第一作者, 以姓氏笔划为序):

马现君(山东大学齐鲁医院)、王文科(辽宁省人民医院)、王秋实(中国医科大学附属盛京医院)、王新华(北京航天医院)、王勇军(中南大学湘雅二医院)、王海燕(青岛大学附属医院)、尹文(空军军医大学第一附属医院)、乐爱平(南昌大学第一附属医院)、叶明亮(安徽合肥京东方医院)、许红(河北石家庄市第四医院)、吕先萍(郑州大学第一附属医院)、石晚霞(陕西省核工业二一五医院)、刘凤华(哈尔滨医科大学附属第一医院)、刘启发(南方医科大学南方医院)、刘志伟(浙江大学医学院附属邵逸夫医院)、刘铁梅(吉林大学中日联谊医院)、乔宠(中国医科大学附属盛京医院妇产科)、乔姝(内蒙古科技大学包头医学院第一附属医院)、孙福廷(山东省潍坊市人民医院)、张印则(深圳大学总医院)、张养民(陕西省西安市中心医院)、张翀(甘肃省妇幼保健院)、吴立翔(重庆大学附属肿瘤医院)、吴远军(广东东莞市妇幼保健院)、陈云科(山西医科大学附属运城医院、运城市中心医院)、陈秉宇(浙江省人民医院)、陈静(河北医科大学第三医院)、周华友(南方医科大学南方医院)、周明(湖南省人民医院)、孟庆宝(广东省深圳市人民医

院)、林文前(中山大学附属肿瘤医院)、林园(中国人民解放军第六医学中心)、洪强(厦门大学附属第一医院)、浑守永(山东省立医院)、胡俊(湖南省妇幼保健院)、饶美英(南昌大学附第二附属医院)、桂嵘(中南大学湘雅三医院)、顾松琴(青海省人民医院)、夏荣(复旦大学附属华山医院)、谢珏(浙江医科大学附属第一医院)、谢毓滨(长沙血液中心)、蔡丹(湖南省湘潭市中心医院)、樊瑞军(宁夏回族自治区人民医院)、潘健(中国科学技术大学附属第一医院、安徽省立医院)、魏亚明*(华南理工大学附属第二医院、广州市第一人民医院)。

参考文献

- 路国强, 何有云, 申红英, 等. 12406例输血患者临床输血不良反应调查分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2014, 24 (22): 3313-3314.
- Revelli N, Villa M A, Olivero B, *et al.* A real-life evaluation of two platelet cross-matching programmes for the treatment of patients refractory to platelet transfusions[J]. Vox Sang, 2019, 114 (1): 73-78.
- Pavenski K, Freedman J, Semple J W. HLA alloimmunization against platelet transfusions: pathophysiology, significance, prevention and management[J]. Tissue Antigens, 2012, 79 (4): 237-245.
- 魏亚明, 吕毅. 基础输血学[M], 人民卫生出版社, 2011.1, 280-282.
- Elhence P, Chaudhary R K, Nityanand S. Cross-match-compatible platelets improve corrected count increments in patients who are refractory to randomly selected platelets[J]. Trasfusione Del Sangue, 2014, 12 (2): 180-186.
- 杨乾坤, 陈李影慧. 多次输血患者血小板抗体检测与血小板输注疗效相关性研究[J]. 中国输血杂志, 2017, 30 (12): 1363-1365.
- 董宏伟. 探讨多次输血患者血小板抗体及血小板输注效果的影响[J]. 临床检验杂志(电子版), 2019, 8 (4): 132-133.
- Bajpai M, Kaura B, Marwaha N, *et al.* Platelet alloimmunization in multitransfused patients with haemato-oncological disorders[J]. Natl Med J India, 2005, 18 (3): 134-136.
- 张秋会, 胡兴斌, 孙文利, 等. 血小板抗体检测及配型在肿瘤患者中的临床应用[J]. 中国输血杂志, 2016, 29 (7): 708-710.
- 张燕. 血小板抗体检测对肿瘤患者血小板输注疗效的影响[J]. 泰山医学院学报, 2018, 39 (3): 303-305.
- 李拥军, 李娜, 唐家英, 等. 红细胞血型抗体指标表达对安全输血的实验研究[J]. 中外医疗, 2014, 33 (21): 26-27.
- 郭文敬, 刘燕明. 输血前抗体筛检临床意义分析[J]. 国际检验医学杂志, 2012, 33 (24): 3047-3048.
- 徐煜, 吴林伯, 吴芳, 等. 血液病反复输血者血小板抗体对血小板输注效果的影响[J]. 河北医学, 2016, 22 (6): 931-933.
- 吴竹林, 左祝华. 造血干细胞移植患者的输血治疗进展[J]. 透析与人工器官, 2005, 16 (3): 1-5.
- Nielsen H S, Witvliet M D, Steffensen R, *et al.* The presence of HLA-antibodies in recurrent miscarriage patients is associated with a reduced chance of a live birth[J]. J Reprod Immunol, 2010, 87 (1/2): 67-73.
- Abraham A S, Chacko M P, Fouzia N A, *et al.* Antibodies to human platelet antigens form a significant proportion of platelet antibodies detected in Indian patients with refractoriness to platelet transfusions[J]. Transfusion Med, 2018, 28 (5): 392-397.
- Vassallo R R. Recognition and management of antibodies to human platelet antigens in platelet transfusion-refractory patients[J]. Immunohematology, 2009, 25 (3): 119-124.
- Kiefel V, König C, Kroll H, *et al.* Platelet alloantibodies in transfused patients[J]. Transfusion, 2001, 41 (6): 766-770.
- Bertrand G, Drame M, Martageix C, *et al.* Response: Prediction of the fetal status in noninvasive management of alloimmune thrombocytopenia[J]. Blood, 2011, 117 (11): 3209-3213.
- Peterson J A, McFarland J G, Curtis B R, *et al.* Neonatal alloimmune thrombocytopenia: pathogenesis, diagnosis and management[J]. Br J Haematol, 2013, 161 (1): 3-14.
- Kamphuis M M, Paridaans N P, Porcelijn L, *et al.* Incidence and consequences of neonatal alloimmune thrombocytopenia: a systematic review[J]. Pediatrics, 2014, 133 (4): 715-721.
- 王培华. 输血技术学[M]. 人民卫生出版社, 2002, 182-183.

- 23 Bonstein L, Haddad N. Taking a wider view on fetal/neonatal alloimmune thrombocytopenia[J]. *Thromb Res*, 2017, 151 (Suppl 1) : S100-S102.
- 24 Killie M K, Husebekk A, Kjeldsen-Kragh J, *et al*. A prospective study of maternal anti-HPA 1a antibody level as a potential predictor of alloimmune thrombocytopenia in the newborn[J]. *Haematologica*, 2008, 93 (6) : 870-877.
- 25 Williamson L M, Hackett G, Rennie J, *et al*. The natural history of fetomaternal alloimmunization to the platelet-specific antigen HPA-1a (PIA1, Zwa) as determined by antenatal screening[J]. *Blood*, 1998, 92 (7) : 2280-2287.
- 26 Brojer E, Husebekk A, Dębska M, *et al*. Fetal/neonatal alloimmune thrombocytopenia: pathogenesis, diagnostics and prevention[J]. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*, 2016, 64 (4) : 279-290.
- 27 Menis M, Forshee R A, Anderson S A, *et al*. Posttransfusion Purpura occurrence and potential risk factors among the inpatient US elderly, as recorded in large Medicare databases during 2011 through 2012[J]. *Transfusion*, 2015, 55 (2) : 284-295.
- 28 Metcalfe P. Platelet antigens and antibody detection[J]. *Vox Sang*, 2004, 87 (Suppl1) : 82-86.
- 29 陈丽, 周浩, 郭博, 等. 孕妇孕期血小板抗体检测的影响因素分析[J]. *中国输血杂志*, 2019, 32 (6) : 575-577.
- 30 谢仁伟, 王明泉, 李丽群, 等. 孕晚期孕妇2038例血小板抗体筛查分析[J]. *福建医药杂志*, 2016, 38 (2) : 98-99.
- 31 Ding J W, Zhou T T, Zeng H S, *et al*. Hyperacute rejection by anti-Gal IgG1, IgG2a, and IgG2b is dependent on complement and Fc-Gamma receptors[J]. *J Immunol*, 2008, 180 (1) : 261-268.
- 32 Li C L, Piran S, Chen P G, *et al*. The maternal immune response to fetal platelet GPIb α causes frequent miscarriage in mice that can be prevented by intravenous IgG and anti-FcRn therapies[J]. *J Clin Invest*, 2011, 121 (11) : 4537-4547.
- 33 Yougbaré I, Lang S A, Yang H, *et al*. Maternal anti-platelet β 3 integrins impair angiogenesis and cause intracranial hemorrhage[J]. *J Clin Invest*, 2015, 125 (4) : 1545-1556.
- 34 苗新宇. 血小板相关抗体水平对特发性血小板减少性紫癜预后的价值研究[J]. *北方药学*, 2016, 13 (8) : 125-126.
- 35 古健, 陈焯文. 血小板相关抗体检测在IPT诊断中的价值[J]. *中国热带医学*, 2012, 12 (1) : 82-83.
- 36 Hamidpour M, Khalili G, Tajic N, *et al*. Comparative of three methods (ELIZA, MAIPA and flow cytometry) to determine anti-platelet antibody in children with ITP[J]. *Transfusion*. 2015, 55 (2) : 284-295.

(收稿日期: 2019-12-28)

(本文编辑: 张媛媛)

· 读者 · 作者 · 编者 ·

版权声明

为适应我国信息化建设, 扩大本刊及作者知识信息交流渠道, 本刊已加入“万方数据-数字化期刊群”、“中国学术期刊网络出版总库”, 并通过“万方数据知识服务平台”、“中国知网”等对外提供无偿或有偿信息服务。其作者文章著作权使用费与本刊稿酬一次性给付。本刊可免费供作者文章引文统计分析资料, 如作者不同意文章被收录, 请在来稿时向本刊声明, 本刊将作适当处理。

本刊编辑部