# 肝素诱导血小板减少症：ICU患者尤其是ECMO患者的诊断

翻译：李 旭 贵州省人民医院

审校：周荣华 四川大学华西医院

# 【摘 要】

#### 背景：肝素诱导血小板减少症（HIT）是一种严重的药物诱导反应，并可危及患者生命。通常发生在肝素后5-10天，出现抗血小板因子4（PF4）/肝素复合物的血小板活化抗体。HIT的诊断是一个挑战，因为血小板减少在重症监护（ICU）患者中比较常见，特别是在体外膜肺氧合治疗期间。

# 目的：探讨HIT诊断方式在ICU患者中的应用效果。

**方法：**本研究包括在使用普通肝素治疗下发生血小板减少或血栓形成的ICU患者。采用4Ts评分评估HIT的预测试概率，用两种快速免疫分析（RA）LFI-HIT和PaGIA（来自Milenia Biotec和DiaMed）对患者血清进行临时检测，并在72小时内使用IgG酶免疫分析（EIA）和肝素诱导血小板活化分析（HIPA）。

**结果：**本研究共纳入392例疑似HIT的ICU患者，其中83/392(21.2%)例患者为体外循环患者。分别有120/392(30.6%)例和98/392(25.0%)例患者的血清显示RA和IgG EIA阳性。HIPA检测显示，共有15/392 (3.8%)例ICU患者(3例内科患者和12例外科患者)存在肝素依赖性血小板活化。此外，7例患者的血清显示不确定的HIPA结果，其中2例患者的临床病程与HIT相符。

**结论：**我们的研究数据证实了使用普通肝素的ICU患者中IgG PF4/肝素抗体的出现率较高，表明4Ts评分和RA的结合并不能减少实验室对这些患者HIT的过度检查。

**前言**

普通肝素（UFH）和低分子肝素（LMWH）是ICU应用最广泛的抗凝剂，都有引起HIT的风险。接触肝素的患者体内形成多分子复合物，包括带负电荷的肝素和阳离子蛋白血小板因子4 (PF4)，导致许多产生抗体。然而，只有少数患者才出现HIT，其特点是无论有无血栓栓塞，在肝素治疗的第5天至第10天后，血小板计数下降。对于高度怀疑HIT的患者，必须停止使用肝素，改用非肝素抗凝剂进行抗凝。对疑似HIT患者，应进行快速、可靠的诊断检查，尽量避免HIT患者血栓形成、或非HIT性血小板减少引起的出血。 广泛研究的4Ts评分系统，有助于确定哪些患者不太可能是HIT。然而，多种因素导致ICU患者血小板减少，如败血症、败血症和非败血症性休克、创伤后和（非HIT）免疫性血小板减少症，血小板计数下降的时间可能很难由没有经验的医生评估，手术或心脏辅助装置的实施都可以影响IgG抗体分泌的时间，血栓形成在ICU患者中的常见性（发生率为5-15%），这些问题都限制了4Ts评分在ICU患者中作为HIT排除工具，因其可导致过度检查。在这项研究中，报告了我院内科和外科ICU患者中HIT诊断方法的临床经验，并介绍了4例ECMO疑似HIT患者的临床治疗过程。

# 材料和方法

**研究设计**

在2016年3月至2018年9月期间，纳入我院外科ICU的疑似HIT患者。纳入标准为年龄>18岁，肝素治疗时间超过2天，血栓形成或开始肝素治疗后血小板计数显著下降（>30%），且既往无HIT史。治疗医生采用4Ts评分系统评估HIT的可能性，当疑似HIT，则收集血清、并在72小时内用于实验室检测。

**4Ts评分系统评估HIT的可能性**

血小板计数下降>50%或血小板最低值>20×109/L，在使用肝素5-10天内出现血小板减少(或者，如果在过去30天内以前接触过肝素，则≤1天)，血栓形成或其他后遗症（并无其他原因），则每项各计2分；

而血小板下降30-50%或血小板最低值在10-19×109/L之间，开始肝素治疗后第10天后血小板开始减少（或者，如果在过去30-100天接触过肝素，则≤1天），进行性或复发性血栓形成，以及其他原因导致的血小板减少，则每项各计1分；

血小板下降低于30%或血小板最低值<10×109/L，血小板在4天内减少（无近期接触），无血栓形成，有其他明确的原因，则各记0分。

**抗PF4/肝素抗体的血清学研究**

研究期间使用了两种市售快速免疫分析法（RAs）：2016年6月前使用的横向流动免疫分析法（LFI-HIT）(MileniaBiotec，Giessen，德国)，以及2016年7月至2018年9月使用的颗粒凝胶免疫分析法（PaGIA）（DiaMed AG，科隆，德国）。

所有血清均进行IgG特异性酶免疫分析（EIA）（商用IgG EIA，Hyphen Biomed，Neuville sur Oise，法国）和HIPA功能测定。HIPA试验是为了研究抗体激活血小板的能力。

# 结果

2016年3月至2018年9月，10292名ICU患者在我院接受了两天以上的普通肝素治疗。398/10292(3.9%)例患者在肝素治疗期间有显著血小板计数下降和/或血栓形成，怀疑为HIT。其中有6名疑似HIT患者没有足够的血清进行完整的抗体检测。因此，共纳入392名患者，内科ICU52名（13.3%），外科ICU340名（86.7%）。平均年龄64岁（95%:62-65），女性123/392（31.4%）。其中83/392（21.2%）例为辅助时间超过24h的机械循环辅助患者（ECMO 76例，LVAD 7例）。

在入院当天及提交血液样本进行HIT实验室检查的当天，观察到内科和外科ICU患者的血小板计数相似。血小板计数(中位数[范围])，入院当天分别为168×109/L[47~560×109/L]和164×109[20~595×109/L]（p=0.6334）；HIT实验室检查当天分别为64×109/L[10~420×109/L]与69×109/L[2~608×109/L]（p=0.2410）。有趣的是，外科ICU的疑似HIT患者接受肝素治疗的时间明显长于内科患者（4天[1~36天] vs. 6天[1~58天], p =0.0246)。

**筛选步骤**

4Ts评分≥4分（中位数：5[4~8]）的ICU患者为361/392（92.1%）。内科和外科ICU患者的4Ts评分无显著性差异（中位数：5[1~7] *vs.* 5[1~8]，p=0.1937）。RA检测结果显示，13/52（25.0%）例内科患者RA呈阳性，107/340（31.5%）例外科ICU患者RA呈阳性。

**外科ICU患者中抗PF4/肝素复合物IgG抗体的发生率**

392份血清中有98份显示IgG-EIA阳性(25.0%)。内科及外科ICU患者的抗PF4/肝素IgG抗体阳性的发生率和强度相似（16/52（30.8%）vs. 82/340（24.1%），p=0.5107）。

**HIPA分析血小板活化的研究**

15/392(3.8%)例患者血清中检测到至少两种细胞悬液的肝素依赖性血小板活化，加上高4Ts分数（中位数 6[4-7]），分别有3/52(5.8%)例内科患者和12/340(3.5%)例外科患者确诊为HIT，在肝素治疗下发生血栓形成或血小板计数下降。

HIPA阴性患者的4Ts评分明显低于HIPA阳性患者（5[1~8] vs. 6[4~7]，p=0.0020）。与HIPA阳性患者相比，HIPA阴性患者的ODs显著降低（0.150[0.059~3.468] vs. 2.120[0.620~3.173]，*p*<0.0001)。疑似HIT时，HIPA阴性和HIPA阳性患者的血小板计数无差异（68×109/L[2~608×109/L] vs. 65×109/L[23~169×109/L]，*p*=0.235）。

**ICU中疑似HIT的患者存在血栓栓塞**

89/391（22.7%）例ICU患者在肝素治疗下中有发生血栓栓塞。其中23/89（25.8%）例检测到抗PF4/肝素复合物IgG抗体；7/89 (7.9%)例HIPA检测到能诱导血小板活化， 其中3份血清为肝素依赖型血小板活化，另外4份血清被稀释(1/2和1/4)时观察到与肝素无关的血小板活化。综上所述，有3例可以通过血清学证实HIT相关血栓形成，但有4例不能排除。

**ICU中确诊HIT患者的临床治疗过程**

HIT的诊断是通过HIPA分析中肝素依赖的血小板活化来确定的。该研究中15例患者确诊HIT。出现HIT时，应立即开始非肝素抗凝，本研究使用阿加托班（n=13）和磺达肝素（n=2）。值得注意的是，阿加托班组4/13（30.8%）和磺达肝素组2/2（100%）在停用肝素后48h内血小板计数恢复。然而，尽管使用阿加托班进行替代性抗凝治疗，2/15（13.3%）例HIT患者出现了新的血栓栓塞并发症。

**不确定HIT病例**

HIPA检测中，有7例高浓度肝素不能抑制血小板活化，进一步EIA测试时， 3例血清中无肝素诱导IgG抗体，排除HIT。随后，这些病例重新开始肝素治疗。而其他4例患者中，可检测到PF4/肝素IgG抗体，为不确定的HIT病例，为了排除非HIT免疫复合物激活血小板，进一步扩大实验室检测。其处理及临床过程如下：

**案例 1**

患者，男，54岁，二尖瓣置换术。术后心脏功能严重受损而安置VA-ECMO（第0天）。术后第32天，尽管用肝素抗凝（aPTT：1.5-2倍，50-60秒），仍发生下腔静脉血栓形成（IVC）和亚段肺栓塞。4Ts评分为5分。当对患者血清检测时，EIA和HIPA显示阳性结果（OD:0.60；肝素非依赖性激活4/4）。抗凝转为阿加曲班（1 mg/kg/min，aPTT：1.5-2倍、50-60s）。阿加曲班治疗后血小板计数迅速恢复，未见出血或新血栓形成。回顾性分析，由于血小板计数下降和血栓形成的时间点是在肝素暴露后32天，HIT在该患者中似乎不太可能发生。

**案例 2**

患者，男，32岁，因心肌梗塞入院。冠状动脉支架植入，在进一步的治疗过程中，出现急性呼吸窘迫综合征（ARDS），安置VV-ECMO，采用普通肝素康宁，由于患者合并肾功能衰竭而进行CRRT。 在第10天，由于肝素和血液透析回路的凝血作用下，血小板计数持续较低，怀疑HIT。患者血清EIA阳性（OD:0.691），HIPA不确定（4个供体中有4个供体的血小板不依赖肝素活化）。此外，患者在支架植入术后第3天和第10天发生了两次出血事件（ECMO股静脉插管处的活动性出血）。由于患者的肝肾功能降低，并且有出血倾向、而无血栓形成，因此患者不符合所有临床相关的HIT标准。因此，在严格控制血小板计数和临床病程的前提下，继续肝素抗凝。出院前，血小板计数未见进一步下降。回顾性分析，我们认为血小板减少不是由HIT引起的，而是由血小板消耗(ECMO和出血)引起的。

**案例 3**

患者，男，62岁，有高血压、冠状动脉疾病及外周动脉疾病病史，因怀疑肺炎合并呼吸功能不全而入院。安置VV-ECMO。ECMO辅助第18天，血小板计数降至74x109/L，怀疑HIT。4Ts评分为4分，抗凝转为阿加曲班（1µg/kg/min，aPTT：1.5-2倍, 50-60s）。血清学检测显示EIA阳性（OD:1.20，受高肝素浓度抑制）、HIPA不确定（4个供体中有3个供体的肝素非依赖性血小板活化）。3天后，重复HIT试验，测试结果证实肝素非依赖性血小板活化。由于不能排除HIT，所以继续使用阿加曲班。在此治疗过程中，血小板计数在8天内恢复到高于150x109/L，没有出血或新的血栓事件。回顾性分析，HIT是本例血小板减少的原因。

**案例 4**

患者，男，55岁，因心肌梗塞入院。心肌梗死导致室间隔缺损(VSD)，经皮VSD封堵失败，入院后第8天安置VA-ECMO，肝素抗凝。第9天，采用体外循环（CPB）完全肝素化下行VSD修补术。肝素治疗后第6天，血小板计数下降，第9天降至48x109/L，抗凝转为阿加曲班（1μg/kg /min，aPTT：1.5-2倍，50-60s）。患者血清检测显示EIA结果阳性（OD:0.64）、HIPA不确定（4个供体中有4个供体的肝素非依赖性血小板活化）。因为无法排除HIT，继续阿加曲班治疗。阿加曲班治疗后血小板计数恢复到166x109/L，未见出血和新血栓形成。回顾性分析，HIT似乎是本例血小板减少的原因。

**结论**

我们的研究显示了当前ICU患者HIT诊断方法的挑战。血小板减少症和抗PF4/肝素复合物IgG免疫的高发生率，影响了4Ts评分和快速免疫分析的标准化诊断的作用。结果表明，PaGIA不仅能快速排除ICU患者HIT，而且具有与IgG-EIA相似的性能特点。在HIT的诊断方法中，PaGIA作为唯一的免疫分析方法尚需进一步研究。对于ICU患者，尤其是ECMO患者，还需要进一步的关于新的检测及诊断方法的研究。