

哌拉西林他唑巴坦钠诱导免疫性溶血反应的研究

阳子骥, 莫柱宁, 焦伟, 罗瑞献, 黎海澜, 叶冬梅

基金项目: 广西科学研究与技术开发计划课题(编号:桂科攻14279011); 广西卫计委科研课题(编号:Z20170315)

作者单位: 530021 南宁, 广西壮族自治区人民医院输血科(阳子骥, 莫柱宁, 焦伟, 罗瑞献, 黎海澜), 药学部(叶冬梅)

作者简介: 阳子骥(1986-), 男, 在职研究生学历, 学士学位, 主管技师, 研究方向: 免疫血液学及输血技术。E-mail: 387855406@qq.com

通讯作者: 焦伟(1959-), 女, 医学硕士, 主任技师, 研究方向: 输血医学及免疫血液学。E-mail: gxjw2005@163.com

[摘要] **目的** 探讨哌拉西林他唑巴坦钠药物抗体的发生频率及其导致免疫性溶血反应的情况。**方法** 应用微柱凝胶技术对临床上使用哌拉西林他唑巴坦钠治疗的患者, 采集血样进行直接抗球蛋白试验(DAT), 并对DAT阳性者进行哌拉西林他唑巴坦钠药物抗体检测, 对药物抗体阳性者收集实验室数据及临床资料, 分析其诱导免疫溶血反应的情况。**结果** 纳入该研究的125例被检者中, DAT阳性74例(59.2%), 其中检出哌拉西林他唑巴坦钠药物抗体34例(27.2%), 4例患者出现症状较轻的血管外溶血反应。**结论** 临床上使用哌拉西林他唑巴坦钠治疗过程中, 机体可产生相关药物抗体而引起药源性免疫溶血反应。

[关键词] 抗菌药物; 药物抗体; 免疫溶血

[中图分类号] R 97 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674-3806(2018)12-1227-03

doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2018.12.14

The study of piperacillin tazobactam sodium-induced immune hemolytic reaction YANG Zi-ji, MO Zhu-ning, JIAO Wei, et al. Department of Blood Transfusion, the People's Hospital of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nanning 530021, China

[Abstract] **Objective** To explore the prevalence of piperacillin tazobactam sodium antibodies and the characteristics of these drug-induced immune hemolytic reaction. **Methods** The blood samples were collected from the patients treated with piperacillin tazobactam sodium and the direct antiglobulin test(DAT) of the red blood cells was done using the micro gel column technique. Detection of the drug antibodies was performed on the patients with positive DAT. Then the laboratory and clinical data of the patients with positive drug antibodies were collected to analyze the immune hemolysis reaction induced by the drug antibodies of piperacillin tazobactam sodium. **Results** In the 125 patients who were included in this study, DAT was positive in 74 cases(59.2%) among whom 34 cases(27.2%) had piperacillin-tazobactam sodium drug antibodies. Of the patients with drug antibodies, 4 cases occurred extravascular hemolysis with slight symptoms. **Conclusion** The patients treated with piperacillin tazobactam sodium may produce the related drug antibodies causing drug-induced immune hemolytic reaction.

[Key words] Antibiotics; Drug antibodies; Immune hemolytic reaction

药物诱导的免疫性溶血(drug-induced immune hemolytic anemia, DIIHA)是药物治疗过程中发生的一种极少见并发症。据报道,世界范围内每年每百万人口中有1~4人发生DIIHA^[1,2]。自1953年Snapper等^[3]报道首例DIIHA以来,至2014年文献报道共有130余种药物可发生DIIHA^[4]。不同时期不同疾病的药物治疗亦会发生DIIHA。虽然DIIHA发生的几率低,但其导致的急性溶血性反应通常是致命的,如头孢曲松钠、哌拉西林等药物抗体均可导致严重的溶血反应^[5-7]。哌拉西林他唑巴坦钠是一

种 β -内酰胺酶抑制剂复合制剂,具有强大的抗菌活性,其中的哌拉西林属于半合成的青霉素类抗生素,结构特点与青霉素相似,亦容易产生相应的药物抗体。Leger等^[8]曾报道美国人群中91%的献血员及49%的随机住院患者体内检出哌拉西林药物抗体,其频率之高应引起我们的重视,尤其是在药物抗体存在的情况下继续用药是否会导致红细胞免疫性损伤。鉴于目前国内鲜见本药物抗体的报道,为了解哌拉西林他唑巴坦钠药物抗体产生的频率及其导致的DIIHA的反应,我们对此进行相关研究。

1 资料与方法

1.1 标本来源 选择 2016-06 ~ 2016-12 在我院使用哌拉西林他唑巴坦钠(上海上药新亚药业有限公司,规格 2.25 g,用量 4.5 g,3 次/d)治疗 3 d 以上的患者(临床诊断包括社区获得性肺炎,外科手术后感,血液系统疾病、肿瘤及其他疾病引起的肺炎等)共 125 例。抽取患者空腹静脉血 3 ml,EDTA-K₂ 抗凝,以离心力为 1 000 g 离心 2 min,分离血浆及压积红细胞备用。

1.2 试剂及仪器 微柱凝胶抗球蛋白检测卡(瑞士 DiaMed 公司,批号 50531.07.18),抗球蛋白试剂(上海血液生物医药有限责任公司,批号 20165001),哌拉西林他唑巴坦钠(上海上药新亚药业有限公司,批号 150502、160808,规格 2.25 g),哌拉西林诱导型溶血检测试剂盒,哌拉西林抗体阳性血清(江苏力博医药生物技术有限公司,批号 3-4D5)。仪器:血库专用离心机(久保田公司,型号 KA-2200)微柱凝胶卡专用离心机及孵育器(瑞士 DiaMed 公司,型号分别为 ID-Centrifuge 12S II、ID-Incubator 37S I)。

1.3 研究方法

1.3.1 直接抗球蛋白试验(DAT) 使用微柱凝胶抗球蛋白法。取患者压积红细胞 2 μ l,以 0.9% 生理盐水 1.6 ml 稀释(0.8%),取包被多特异性抗球蛋白试剂(抗-IgG + 抗-C3)的凝胶微柱卡标记后每孔加入 0.8% 的红细胞悬液 50 μ l,以 126 g 离心力离心 10 min,观察结果并记录;对以上 DAT 结果阳性的 36 例血样分别使用抗-IgG 和抗-C3 进行 DAT 分型试验,操作方法参考 AABB 手册^[9]。

1.3.2 哌拉西林他唑巴坦钠药物致敏细胞的制作 制作方法参考 AABB 手册^[9]。取 2 只烧杯并标记,其一标记为药物致敏细胞,并加入 600 mg 的哌拉西林他唑巴坦钠溶解于 15 ml 0.1 M pH 为 9.6 ~ 9.8 的巴比妥钠缓冲液(BB)中,加入 1 ml 的三洗 O 型压积红细胞;另一烧杯标记为对照细胞,并加入 1 ml 未加药物的三洗 O 型压积红细胞于 15 ml 相同的缓冲液中。将以上细胞悬液充分混匀后置于室温中孵育 1 h(期间反复混匀数次),使用 BB 液三洗细胞并配成 1% 的红细胞悬液备用。

1.3.3 哌拉西林他唑巴坦钠药物抗体的检测 对 DAT 阳性患者血浆使用微柱凝胶抗球蛋白法进行检测。取多特异性抗球蛋白检测卡(抗 IgG + C3d),每一待测样本分别标记样本孔及阴性对照孔,样本孔加入 1% 药物致敏红细胞悬液 25 μ l 及患者血浆 50 μ l,阴性对照孔加入 1% 对照细胞 25 μ l 及患者

血浆 50 μ l,每批次设一阳性对照孔并加入 1% 药物致敏细胞悬液 25 μ l 及哌拉西林抗体阳性血清 50 μ l,37 $^{\circ}$ C 孵育 60 min,以离心力为 126 g 离心 10 min,观察结果并记录。

1.4 溶血反应的临床诊断 参照《血液病学》^[10],对药物抗体阳性的患者,根据血样检验及临床表现,判断是否符合药物免疫性溶血反应。

1.5 统计学方法 应用 SPSS16.0 统计软件对数据进行分析,计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组间比较采用单因素方差分析,计数资料比较采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组研究对象基本情况比较 共有 125 例符合条件的患者纳入本研究,其中男 76 例,女 49 例,年龄 15 ~ 98(65.2 \pm 17.1)岁。根据检测结果将纳入的 125 例患者分为 DAT 阴性组 51 例,DAT 阳性组 74 例(其中药物抗体阴性组 40 例,药物抗体阳性组 34 例),进行组间性别、年龄、检测前用药时间等指标进行统计,发现三组间男女患者药物抗体产生频率的差异有统计学意义($P < 0.05$)。此外,用药时间对 DAT 阳性及药物抗体产生频率在不同组间的差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1。

表 1 各组研究对象基本情况比较[$(\bar{x} \pm s)$, $n(\%)$]

组别	例数	性别		年龄(岁)	检测前用药时间(d)
		男	女		
DAT 阴性组	51	35(68.63)	16(31.37)	63.25 \pm 17.84	5.92 \pm 2.71
DAT 阳性	74				
药物抗体阴性组	40	17(42.50)	23(57.50)	66.50 \pm 16.89	6.95 \pm 3.54
药物抗体阳性组	34	24(70.59)	10(29.41)	64.68 \pm 17.26	7.00 \pm 2.97
χ^2/F	-	8.298		0.391	1.718
P	-	0.016		0.678	0.184

2.2 DAT 结果 共检出多特异性 DAT 阳性患者 74 例(59.2%),对其中的 36 例 DAT 阳性者抗体分型显示:抗-IgG 型 29 例(80.56%),抗-IgG 与抗-C3 混合型 7 例(19.44%)。

2.3 药物抗体诱导的免疫溶血反应病例分析 34 例(27.2%)哌拉西林他唑巴坦钠药物抗体阳性患者中,发现 4 例(11.8%)出现症状较轻的溶血反应。患者均因肺部感染而注射哌拉西林他唑巴坦钠治疗 5 ~ 15 d。其中 1 例在检出药物抗体前曾有 3 次该药用药史,余 3 例均在首次用药检出药物抗体。溶血的临床表现发生相对较缓慢,贫血症状轻。检验结果显示间接胆红素升高,血红蛋白较用药前平均下降 14 g/L(下降范围为 9 ~ 23 g/L)。2 例患者尿

潜血阳性。4例患者停药后血红蛋白水平在短期内恢复到用药前水平。

3 讨论

3.1 Garratty 等^[11]曾报道 β -内酰胺酶抑制剂类抗菌药物如舒巴坦、克拉维酸等治疗的患者中,39% (23/59) 的患者 DAT 阳性,提示 β -内酰胺酶抑制剂类抗菌药物导致 DAT 阳性的机制是该类药物可影响红细胞膜结构改变,使体内非特异性蛋白质物质吸附于细胞膜上所致,然而无法证实非特异性蛋白吸附是否可缩短体内红细胞存活时间,即发生药物溶血患者的 DAT 阳性是否为该机制所导致。

3.2 我们检测的 34 例药物抗体阳性的患者中,男性居多,仅有 4 例患者产生症状较轻的迟发型溶血反应。文献报道^[12-15],哌拉西林药物抗体通常可引起严重的免疫溶血反应,这与患者体内产生高效价的哌拉西林药物抗体有关,而选择合适的方法进行检测极为重要。本研究及 Leger 等^[8]的研究方法均使用哌拉西林药物致敏细胞检测患者血清中的药物抗体,其敏感性高,可以检测血清中较弱的哌拉西林抗体,而此类患者通常处于无溶血症状的携带药物抗体状态。鉴于此,Leger 等^[8,12]建议在调查可疑的哌拉西林药物抗体导致的溶血性反应时,应使用在待检血清中添加目标药物的方法(testing in the presence of drug)来检测哌拉西林抗体更为可靠。

3.3 本研究检出哌拉西林他唑巴坦钠药物抗体频率为 27.2%,低于 Leger 等^[8]的报道。而 DAT 阳性率高达 59.2%,以 IgG 型居多,少量为 IgG + C3 混合型,与文献报道的关于 β -内酰胺酶抑制剂类抗菌药物导致的 DAT 阳性者多为 IgG 型的观点一致^[11],而大部分 DAT 阳性患者均未观察到溶血的实验室证据和临床表现,其药物抗体频率与患者用药时间无差异,但未能对药物使用频次与药物抗体产生频率的关系进行评估。总之,临床上使用哌拉西林他唑巴坦钠进行治疗的患者可产生相关药物抗体,建议对反复用药的患者进行相关药物抗体的动态监测。针对用药后出现不明原因血红蛋白进行性下降的情况,应考虑药物抗体引起的免疫溶血反应,立即停药并进行对症治疗,避免造成不良后果。

参考文献

- Petz LD, Garratty G. Immune Hemolytic Anemias [M]. 2nd ed. Philadelphia, Churchill Livingstone, 2004:79-80.
- Garbe E, Andersohn F, Bronder E, et al. Drug induced immune haemolytic anaemia in the Berlin Case-Control Surveillance Study [J]. Br J Haematol, 2011,154(5):644-653.
- Snapper I, Marks D, Schwartz L, et al. Hemolytic anemia secondary to mesantoin [J]. Ann Intern Med, 1953,39(3):619-623.
- Garratty G, Arndt PA. Drugs that have been shown to cause drug-induced immune hemolytic anemia or positive direct antiglobulin tests: some interesting findings since 2007 [J]. Immunohematology, 2014, 30(2):66-79.
- Mayer B, Bartolmäs T, Yürek S, et al. Variability of findings in drug-induced immune haemolytic anaemia: experience over 20 years in a single centre [J]. Transfus Med Hemother, 2015,42(5):333-339.
- Lohiya GS, Tan-Figueroa L, Krishna V. Piperacillin-induced immune hemolysis presenting with tachycardia and cardiac arrest [J]. Case Rep Med, 2011,2011:816497.
- Quillen K, Lane C, Hu E, et al. Prevalence of ceftriaxone-induced red blood cell antibodies in pediatric patients with sickle cell disease and human immunodeficiency virus infection [J]. Pediatr Infect Dis J, 2008,27(4):357-358.
- Leger RM, Arndt PA, Garratty G. Serological studies of piperacillin antibodies [J]. Transfusion, 2008,48(11):2429-2434.
- Fung MK, Grossman BJ, Hillyer CD, et al. Technical Manual [M]. 18th ed. AABB, 2014:440-444.
- 张之南, 杨天楹, 郝玉书. 血液病学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2003:579-581.
- Garratty G, Arndt PA. Positive direct antiglobulin tests and haemolytic anaemia following therapy with beta-lactamase inhibitor containing drugs may be associated with nonimmunologic adsorption of protein onto red blood cells [J]. Br J Haematol, 1998,100(4):777-783.
- Mayer B, Yürek S, Salama A. Piperacillin-induced immune hemolysis: new cases and a concise review of the literature [J]. Transfusion, 2010,50(5):1135-1138.
- Marik PE, Parekh P. Life-threatening piperacillin-induced immune hemolysis in a patient with cystic fibrosis [J]. BMJ Case Rep, 2013,2013:bcr2012007801.
- Meinus C, Schwarz C, Mayer B, et al. Piperacillin-induced mild haemolytic anaemia in a 44-year-old patient with cystic fibrosis [J]. BMJ Case Rep, 2016,2016:bcr2016216937.
- Bandara M, Seder DB, Garratty G, et al. Piperacillin-induced immune hemolytic anemia in an adult with cystic fibrosis [J]. Case Rep Med, 2010,2010:161454.

[收稿日期 2018-06-14][本文编辑 杨光和]