

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТИТРОВ АНТИЭРИТРОЦИТАРНЫХ АНТИТЕЛ В ПРЕПАРАТАХ ИММУНОГЛОБУЛИНА ДЛЯ ВНУТРИВЕННОГО ВВЕДЕНИЯ

С.Ю. Сергутина, А.С. Тимченко

ГУ «Институт гематологии и трансфузиологии НАМН Украины», Киев

Резюме. *Цель – определить титры аллогенных антител (алло-АТ) к антигенам эритроцитов в образцах промышленных серий препаратов иммуноглобулина для внутривенного введения (ИГВВ).*

Материалы и методы. *Определение анти-А, анти-В агглютининов и анти-Д АТ проводили микрометодом в геле с использованием ID-карточек (BIO-RAD, Швейцария). Исследовано образцы шести (I-VI) серий промышленного нативного препарата ИГВВ согласно аналитической нормативной документации к препарату.*

Результаты. *Показано наличие антиэритроцитарных алло-АТ во всех опытных образцах препарата. 2/3 образцов ИГВВ имели пограничные значения титров анти-А, анти-В агглютининов, анти-Д АТ, регламентированные международными и государственными нормативными документами; в одном образце титр анти-Д АТ превышал допустимые нормы.*

Выводы. *Полученные данные свидетельствуют о наличии иммуногематологической опасности при клиническом применении препаратов ИГВВ, что требует внесения изменений в нормативную документацию относительно его производства, а также пристального внимания клиницистов, проводящих иммунотерапию.*

Ключевые слова: *титры антиэритроцитарных аллогенных антител (анти-А, анти-В агглютининов, анти-Д антител), иммуноглобулин для внутривенного введения, иммуногематологическая безопасность.*

DETERMINATION OF ANTIERYTHROCYTE ANTIBODIES TITERS IN THE INTRAVENOUS IMMUNOGLOBULIN PREPARATIONS

S.Yu. Sergutina, A.S. Timchenko

SI «Institute of Haematology and Transfusiology of NAMS of Ukraine», Kyiv

Summary. *Aim – to determine the titers of allogenic antibodies (allo-AB) to erythrocyte antigens in samples of production batches of intravenous immunoglobulin preparations (IVIG).*

Materials and methods. *The determination of anti-A, anti-B agglutinins and anti-D AB were performed by means of gel micromethod using ID-cards (BIO-RAD, Switzerland). It was investigated the samples of six (I-VI) series of industrial native IVIG preparations according to analytical documentation to the drug.*

Results. *It was demonstrated the presence of anti-erythrocytic allo-AB in all test samples of the preparation. The 2/3 of IVIG samples had borderline titers of anti-A, anti-B agglutinins, anti-D AB that are regulated by international and governmental regulations; in one sample the titer of anti-D AB exceeded the permissible limits.*

Conclusions. *The findings suggest that the presence of immunohaematologic dangers of drugs in clinical use of IVIG, which requires changes in the regulatory documents that regulate its production, as well as attention of clinicians conducting immunotherapy/*

Key words: *titers of the anti-erythrocyte antibodies (anti-A, anti-B agglutinins, anti-D antibodies), intravenous immunoglobulin, immunohaematologic safety.*

Широке клінічне застосування препаратів імуноглобуліну для внутрішньовенного введення (ІГВВ) не тільки дозволило в останні десятиліття підвищити і прискорити лікувальний ефект при багатьох патологічних станах, але й виявило проблему антиеритроцитарної активності цих препаратів.

Відомо, що на теперішній час усі препарати ІГВВ виготовляються із плазми крові здорових донорів, яку згідно з чинним законодавством України [10, 11], не тестують на вміст антиеритроцитарних антитіл, хоча в ній містяться алогенні антитіла (ало-АТ) до антигенів (АГ) еритроцитів різної специфічності й активності [1–4, 6]. Ці АТ бувають двох видів: природні та імунні. Перші є вродженими, спрямованими проти відсутнього у даної особи АГ системи АВ0, містяться в сироватці крові людини, яка не мала в анамнезі гемотрансфузій та вагітностей. Імунні з'являються після імунного стимулювання АГ, відсутнім у індивіда (наприклад, після несумісної за групою або резус-фактором гемотрансфузії або вагітності), і здатні при потраплянні в кров'яне русло викликати гемоліз еритроцитів [2, 6]. Основними, клінічно значущими АТ, що містяться в препаратах ІГВВ, є анти-А й анти-В аглютиніни та анти-D АТ [14].

Головною вимогою до препаратів, що виготовляються з плазми крові донорів, є їх безпечність, яка тісно пов'язана з якістю [7–9, 11, 12]. Тому для підвищення імуногематологічної безпеки ІГВВ Європейською Фармакопеєю (ЄФ) та державними нормативними документами (зокрема – Державною Фармакопеєю (ДФ)) вміст антиеритроцитарних ало-АТ у препаратах ІГВВ обмежується значеннями титрів відповідно не більше 1:64 і 1:8 [15, 18]. Незважаючи контроль титру цих АТ у препаратах ІГВВ з боку фірм-виробників, випадки гемолітичних ускладнень при їх клінічному застосуванні все ж таки трапляються [16, 17, 19–21].

Мета. Визначити титри ало-АТ до АГ еритроцитів у зразках промислових серій препаратів ІГВВ.

Матеріали і методи досліджень. Досліджено шість (I-VI) промислових серій нативного ІГВВ, виготовленого за допомогою ПрАТ «Біофарма», з яких V серія – це був 5% розчин препарату, всі інші – 10%

розчини ІГВВ. Визначення титрів анти-А та анти-В аглютининів і анти-D АТ проводили мікрометодом у гелі з використанням ID-карток (BIO-RAD, Швейцарія). Згідно з аналітичною нормативною документацією (АНД) до вітчизняного ІГВВ для проведення досліджень використовували відповідні розведення вихідних розчинів препарату, які в подальшому застосовували для визначення титру антиеритроцитарних АТ. Так, дослідження анти-А та анти-В аглютининів розпочинали з концентрації 3%, анти-D АТ – 2,5%, – з наступними послідовними двократними розведеннями цих розчинів ІГВВ.

Результати та їх обговорення. Отримані результати досліджень титру антиеритроцитарних АТ у зразках шести серій препаратів ІГВВ наведені у таблиці.

Таблиця

Титри антиеритроцитарних антитіл у препаратах імуноглобуліну для внутрішньовенного введення

№ серії ІГВВ	Титр анти-А аглютининів*	Титр анти-В аглютининів*	Титр анти-D антитіл**
I	1:32	1:16	1:4
II	1:64	1:16	1:8
III	1:64	1:16	1:8
IV	1:64	1:16	1:8
V	1:32	1:8	1:8
VI	1:64	1:4	1:16

Примітки:

- * – титр анти-А та анти-В аглютининів у препараті ІГВВ за вимогами ЄФ та ДФ України не повинен перевищувати 1:64 (\leq 1:64).
- ** – титр анти-D антитіл у препараті ІГВВ за вимогами нормативних документів не повинен перевищувати 1:8 (\leq 1:8).

У ході дослідження було встановлено, що антиеритроцитарні ало-АТ містилися в усіх промислових зразках отриманого ІГВВ. Як видно із табл., титри анти-А аглютининів коливалися від 1:32 до 1:64, анти-В – від 1:4 до 1:16. У 2/3 дослідних зразків препарату рівень анти-А антиеритроцитарних АТ був на максимальній межі допустимої норми, що регламентується міжнародними і державними нормативними документами. Дослідження титру анти-D АТ показало його коливання у препараті вітчизняного ІГВВ від 1:4 до 1:16. Рівень титру цих АТ також був гранично допустимим у 2/3 дослідних серій ІГВВ, але в зразку препарату VI-ї серії цей показник перевищував на один ступінь допустимі межі (табл.).

Наявність в препараті вітчизняного ІГВВ АТ системи АВ0 (анти-А та анти-В) має важливе значення для безпечного їх клінічного застосування. Так, проведення імунотерапії з використанням вітчизняного препарату хворим, що мають 0 (I) групу крові за системою АВ0, не несе імунологічної загрози, тоді як у пацієнтів, що мають групи крові А (II), В (III), АВ (IV), вона існує, особливо при високодозовій і довготривалій ІГВВ-терапії. Наявність у всіх дослідних зразках препарату алоімунних анти-Д АТ вимагає від клініцистів особливої уваги при проведенні імунотерапії резус-позитивним реципієнтам, бо ступінь гемолізу, що може виникати при застосуванні ІГВВ, буде залежати від активності цих АТ та дози введеного препарату [14].

Отримані дані свідчать про те, що при клінічному використанні препаратів ІГВВ існує загроза можливого виникнення гемолітичних ускладнень. Враховуючи вищесказане, необхідно обов'язково проводити контроль гемолізу еритроцитів у резус-позитивних хворих на тлі імунотерапії, а також пацієнтам, яким застосовується препарат ІГВВ у високих дозах (1-2 г/кг) та/або тривалий час.

Як було сказано вище, проблема ефективності та безпечності клінічного застосування ІГВВ-терапії тісно пов'язана з якістю цих препаратів. Відомо, що якість кінцевого продукту, виготовленого із плазми крові донорів, перш за все, залежить від якісної сировини – плазми, що використовується для фракціонування. На превеликий жаль, до теперішнього часу в службі крові України відсутня фармакопейна стаття щодо «Плазми для фракціонування». У своїй роботі спеціалісти з виробничої трансфузіології керуються Законами України, Наказами МОЗ України та іншими нормативними документами [5, 7-13, 15, 18], в яких основними показниками якості плазми крові для фракціонування є: відсутність інфекційних маркерів, вміст загального білка, залишкова кількість клітин крові (еритроцитів, лейкоцитів, тромбоцитів), за потреби – активність фактора згортання крові VIII. Але, враховуючи отримані результати досліджень і дані наукової літератури, вважаємо, що для підвищення імуногематологічної безпеки препаратів ІГВВ необхідно проводити обов'язкове обстеження донорів на наявність імунних антиеритроцитарних АТ при кожній донації крові і плазми, що дозволить виявляти АТ широкого спектра, різної специфічності та імуногенності, а також вилучати індивідуальні дози плазми, що містять такі АТ, на етапі заготівлі сировини (плазми для фракціонування) для виробництва ІГВВ. Це потребує негайного внесення змін до нормативної документації, що регламентує процес заготівлі крові та її компонентів, а також виробництва препаратів ІГВВ.

Висновки

1. Досліджені промислові серії препарату нативного ІГВВ містили антиеритроцитарні ало-АТ.

2. У 2/3 дослідних зразків титри антиеритроцитарних АТ мали граничні значення, регламентовані Європейською та Державною фармакопеями.

3. У VI-й серії ІГВВ титр анти-D АТ перевищував допустимі значення (відповідно 1:16 проти 1:8), що регламентуються нормативними документами.

4. Отримані дані свідчать про наявність імуногематологічної небезпеки при клінічному застосуванні препаратів ІГВВ, що потребує внесення змін до нормативної документації щодо його виробництва, а також пильної уваги з боку клініцистів, які проводять імунотерапію.

Автори висловлюють подяку групі імуногематології ДУ «ІТ НАМН» (керівник – к. мед. н., с. н. с. Павлюк Р.П.) та Житомирському обласному центру крові (головний лікар – к. мед. н. Чугрієв А.М.) за допомогу при проведенні досліджень.

Література

1. Дашкова Н.Г. Система обеспечения иммунологической безопасности гемокомпонентной терапии : диссертация на соискание ученой степени д-ра мед. наук : 14.00.29 «Гематология и переливание крови» / Дашкова Наталья Георгиевна. – М., 2006. – 271 с.

2. Донсков С.И. Группы крови системы Rhesus. Теория и практика / С.И. Донсков. – М. : Б. и., 2006. – 392 с.

3. Донсков С.И. Групповые антигены эритроцитов. Концепция совместимости : руководство для иммуносерологов и трансфузиологов / С.И. Донсков, В.А. Морочков, И.В. Дубинкин. – М. : Б. и., 2008. – 184 с.

4. Группы крови и аллоиммунизация. Сообщение 1. Связь группы крови А (II) со способностью вырабатывать антитела / С.И. Донсков, И.П. Авраменко, И.В. Дубинкин [и др.] // Вестник службы крови России. – 2014. – № 2. – С. 18–23.

5. Закон України від 23.06.1995 р. № 239/95 «Про донорство крові та її компонентів» [Ел. ресурс]. – Режим доступу : <http://zakon4.rada.gov.ua/laws/show/239/95-вр>

6. Минеева Н.В. Группы крови человека. Основы иммуногематологии / Н.В. Минеева. – [2-е изд-е]. – СПб. : ООО «А-принт», 2010. – 188 с.

7. Наказ МОЗ України від 02.06.2005 № 247 «Про затвердження документів з питань контролю якості препаратів крові» [Ел. ресурс]. – Режим доступу : http://www.moz.gov.ua/ua/portal/dn_20050602_247.html

8. Наказ МОЗ України від 26.07.2005 р. № 375 «Про затвердження документів з питань контролю якості препаратів крові» [Ел. ресурс]. – Режим доступу : http://www.moz.gov.ua/ua/portal/dn_20050726_375.html

9. Наказ МОЗ України від 26.07.2005 р. № 376 «Про затвердження документів з питань контролю якості препаратів крові» [Ел. ресурс]. – Режим доступу : http://www.moz.gov.ua/ua/portal/dn_20050726_376.html

10. Наказ МОЗ України від 01.08.2005 р. № 385 «Порядок медичного обстеження донорів крові та (або) її компонентів» [Ел. ресурс]. – Режим доступу : <http://zakon4.rada.gov.ua/laws/show/z0896-05>

11. Наказ МОЗ України від 09.03.2010 р. № 211 «Про затвердження Порядку контролю за дотриманням показників безпеки та якості донорської крові та її компонентів» [Ел. ресурс]. – Режим доступу : <http://zakon2.rada.gov.ua/laws/show/z0368-10>

12. Наказ МОЗ України від 17.12.2013 р. № 1093 «Про затвердження Інструкції з виготовлення, використання та забезпечення якості компонентів крові» [Ел. ресурс]. – Режим доступу : <http://zakon4.rada.gov.ua/laws/show/z0030-14>

13. Постанова КМ України від 15.01.1996 № 73 «Про затвердження Положення про контроль за відповідністю імунобіологічних препаратів, що застосовуються в медичній практиці, вимогам державних та міжнародних стандартів» [Ел. ресурс]. – Режим доступу : <http://zakon2.rada.gov.ua/laws/show/73-96-p>

14. Скудницкий А.Е. Необходимость иммуногематологической безопасности внутривенного иммуноглобулина / А.Е. Скудницкий // Вестник службы крови России. – 2006. – № 4. – С. 12–15.

15. Державна Фармакопея України : перше видання / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – Харків : PIPEГ, 2001. – 556 с. (Доповнення 1 – 2004 р., 492 с.; Доповнення 2 – 2008 р., 620 с.; Доповнення 3 – 2009 р., 280 с.; Доповнення 4 – 2011 р., 538 с.)

16. Acute hemolysis after high-dose intravenous immunoglobulin therapy in highly HLA sensitized patients / Kahwaji J., Barker E., Pepkowitz S. [et al.] // Clin. J. Am. Soc. Nephrol. – 2009. – Vol. 4. – P. 1993-1997.

17. Carbone J. Adverse Reaction and Pathogen Safety of Intravenous Immunoglobulin / J. Carbone // Cur. Drug Safety. – 2007. – Vol. 2, № 1. – P. 9–18.

18. European Pharmacopeia 6th edition. 01/2008. Human normal immunoglobulin for intravenous administration [Електронний ресурс] // Режим доступу : <http://www.europa.eu/scadplus>

19. Hemolytic transfusion reaction after administration of intravenous immune (gamma) globulin: a case series analysis / Daw Z., Padmore P., Neurath D. [et al.] // Transfusion. – 2008. – Vol. 48, № 8. – P. 1598-1601.

20. Haemolysis after treatment with intravenous immunoglobulin due to anti-A / Morgan S., Sorensen P., Vercellotti G., Zantek N.D. // Transfus. Med. – 2011. – Vol. 21, № 4. – P. 267-270.

21. Stiehm E.R. Adverse effects of human immunoglobulin therapy / Stiehm E.R. // Transfusion Med. Rev. – 2013. – Vol. 27, № 3. – P. 171–178.