

Anna Zakrzewska, Danuta Rymkiewicz

OCENA AKTYWNOŚCI ANTYTOKSYCZNEJ I ANTYBAKTERYJNEJ PREPARATÓW LUDZKIEJ NORMALNEJ IMMUNOLOGLOBULINY

I. POZIOM ANTYTOKSYN TĘŻCOWYCH W PREPARATACH IMIG I IVIG

Zakład Badania Surowic i Szczepionek Państwowego Zakładu Higieny w Warszawie
Kierownik: prof. dr hab. D. Rymkiewicz

Przedstawiono wyniki badania poziomu antytoksyn tężcowych w 1121 seriach ludzkiej immunoglobuliny normalnej do podawania domięśniowego (IMIG) i dożylnego (IVIG) wskazując na dostępne w kraju preparaty, które mogłyby znaleźć zastosowanie w zapobieganiu i leczeniu tężca w zastępstwie swoistej immunoglobuliny.

Ludzka immunoglobulina przeciwtężcowa (TIG), zgodnie z 2-krotnie ostatnio podwyższonym wymogiem WHO, powinna zawierać minimum 100 JA/ml (14). Aby sprostać tym wymogom producent dla przygotowania jednej serii preparatu powinien wyselekcjonować co najmniej 1000 próbek plazmy o odpowiednio wysokim poziomie antytoksyn tężcowych (1, 3, 6). Wyższy koszt i mniejsza dostępność swoistej immunoglobuliny skłoniła szereg ośrodków do przeprowadzenia rozeznania, która z normalnych immunoglobulin ludzkich dostępnych w danym kraju, może zastąpić TIG (2, 8, 13).

Taką analizę danych z lat 1974–94 z seryjnej kontroli preparatów immunoglobulin normalnych, z uwzględnieniem metod ich produkcji, przedstawiamy poniżej.

MATERIAŁ I METODY

IMIG – zbadano 791 serii ludzkich normalnych 15% immunoglobulin produkcji BIOMED-WWSS, otrzymanych metodą Cohna, płynnych, do stosowania domięśniowego. Stabilizatorem białka IgG był 1,5% glikokol.

IVIG – zbadano 262 serie ludzkich normalnych 5% immunoglobulin do stosowania dożylnego importowanych liofilizowanych i 13 płynnych (BIOTEST) oraz 55 serii krajowych preparatów (BIOMED) produkowanych zarówno w postaci liofilizowanej jak i płynnej. W tabeli I przedstawiono charakterystykę tych preparatów. Do stabilizacji białka IgG producenci stosowali 2,5% glicynę, 2,5% glukozę lub 5% sacharozę.

TN – poziom przeciwciał tężcowych oznaczano testem neutralizacji przeprowadzanym na poziomie L+/10 w próbie biologicznej na myszach wobec wzorca ATL.1–G.4 wymianowanym w jednostkach międzynarodowych antytoksyny tężcowej (JA). W tabeli I przedstawiono średnią geometryczną poziomu antytoksyn

Tabela I. Charakterystyka 330 serii preparatów IVIG (5% ludzkich normalnych immunoglobulin do stosowania dożylnego).

Lp.	Preparat (liczba serii)	Producent	(technologia)	JA/ml – śr. geom. (zasięg)
1.	Veinoglobulin (27)	MERIEUX	(plazmina)	9,06 (5–20)
2.	Biseko (2)	Biotest	beta- propiolakton	9,00 (8–10)
3.	Pentaglobin (3)	Biotest	beta- propiolakton	10,00 (8–12)
4.	Intraglobin (8)	Biotest	beta- propiolakton	11,22 (10–15)
5.	Biogam (4)	Biotransfusion	pepsyna w pH 4	10,00 (9–12)
6.	Sandoglobulin (52)	Sandoz	pepsyna w pH 4	10,20 (5–20)
7.	Sandoglobulin P (5)	SANDOZ CTL	pepsyna w pH 4	18,00 (15–20)
8.	Bioglobulina (55)	Biomed	pepsyna w pH 4	16,81 (14–20)
9.	Venimum (23)	Behring	sulfitoliza	15,46 (10–30)
10.	Polygam (12)	Baxter	PEG	15,94 (10–20)
11.	Endobulin (30)	Immuno	PEG	23,69 (10–35)
12.	IV-Gloman (1)	Schwab	Sephadex	24,00
13.	Gammavenin (108)	Behring	pepsyna	45,99 (20–50)

z oznaczeń przeprowadzonych dla poszczególnych serii a w nawiasach podano najniższy i najwyższy poziom przeciwciał jaki stwierdzono dla danego preparatu.

WYNIKI

Poziom przeciwciał tężcowych w preparatach IMIG

Średnia geometryczna z oznaczeń 791 serii wyniosła 35,80 JA/ml, najniższy poziom (15 JA) stwierdzono w 1,4% serii, najwyższy (80 JA) w 0,9% serii a w 22% serii IMIG stwierdzono poziom 40 JA/ml.

Poziom przeciwciał tężcowych w preparatach IVIG

Wyniki przedstawiono w tabeli I, średnia geometryczna poziomu antytoksyn z oznaczeń 330 serii wyniosła 15,68 JA/ml. Najniższy poziom przeciwciał (5 JA) stwierdzono w 1,4% serii, najwyższy (20 JA) w 9,5% serii a w 23% serii IVIG stwierdzono poziom 10 JA/ml.

Analizując dane z uwzględnieniem metody zabezpieczenia frakcji IgG przed tworzeniem agregatów stwierdzono, że śr. geom. poziomu przeciwciał w preparatach IVIG otrzymanych metodą chemiczną przy użyciu:

- beta-propiolaktonu – dla 13 serii 3 preparatów firmy Biotest wyniosła 9,84 (5–15) JA/ml,
- sulfitolizy – dla 23 serii Venimum firmy Behring wyniosła 15,46 (10–30) JA/ml
- śladów pepsyny w pH 4 – dla 52 serii Sandoglobulin firmy Sandoz wyniosła 10,79 (5–20), dla 5 serii Sandoglobulin P – 18,0 (15–20) a dla 55 serii Bioglobuliny firmy Biomed wyniosła 16,31 (10–20) JA/ml,

otrzymanych metodą fizyko-chemiczną przy użyciu:

- PEG – dla 12 serii Polygam firmy Baxter wyniosła 15,94 (10–20) JA/ml a dla 30 serii Endobulin firmy Immuno wyniosła 23,69 (10–35) JA/ml,
- Sephadex – poziom przeciwciał jednej serii IV Gloman firmy Schwab wyniósł 24 JA/ml,

otrzymanych metodą enzymatyczną przy użyciu:

- plazminy – dla 27 serii Veinoglobulin firmy Merieux wyniosła 9,06 (5–20) JA/ml,
- pepsyny – dla 108 serii Gammavenin firmy Behring wyniosła 45,99 (20–50) JA/ml.

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Preparaty IMIG szeroko stosowane w latach 70–80 w akcjach przedsezonowych dla ochrony dzieci przed wzv A obecnie mają mniejsze zastosowanie i ich produkcja została ograniczona do 6–8 serii rocznie. Przeglądy serologiczne przeprowadzone po wprowadzeniu obowiązkowych szczepień ochronnych (DiTePer, DiTe, Te, Td i d) wykazały, że ludzie młodzi na ogół posiadają wysokie miano przeciwciał tężcowych i u dawców można się spodziewać co najmniej 1 JA/ml. W 15-krotnie zagęszczonej frakcji IgG w IMIG można się było spodziewać co najmniej 15 JA/ml (5, 7, 10). Taki poziom – 15 JA był najniższym, jaki stwierdzano w tych badaniach.

Zarejestrowane w Polsce 2 swoiste preparaty TIG: Tetabulin (Immuno) i Teta-globulin (Merieux) zawierają minimalną dawkę profilaktyczną 250 JA w objętości 2 ml. W zastępstwie TIG możnaby było stosować IMIV w obj. 5 ml z serii zawierającej co najmniej 50 JA/ml. Przy założeniu, że w pierwszych 3 dniach wychwytywanych jest 40% podanej dawki pacjent w tym czasie miałby 0,02 JA/ml przy poziomie przyjętym za ochronny 0,01 JA/ml.

Preparaty IVIG stosowane są u pacjentów z zespołem niedoboru przeciwciał a swoista ludzka immunoglobulina jest zalecana tym, którzy już raz otrzymali białko końskie (TAT). Uważa się, że TAT jest 5–20 razy mniej efektywna od TIG (4, 12). Efektywność antytoksyn tężcowych w preparatach IVIG zależy, jak się wydaje, w pierwszym rzędzie od stanu odporności populacji z której rekrutują się dawcy a następnie od metody obróbki II frakcji Cohna. Dwa preparaty: Sandoglobulin P i Bioglobulina zostały przygotowane taką samą technologią z plazmy polskich dawców i wykazują podobny poziom antytoksyn ale już preparat firmy Sandoz przygotowany, tą samą metodą ale z plazmy innego pochodzenia, wykazywał blisko 2-krotnie niższą aktywność antytoksyczną.

Fragmety F(ab)₂ cząsteczki IgG o ciężarze 5S uzyskane za pomocą silnego trawienia pepsyną (Gammavenin-Behring) okazały się najaktywniejsze w łączeniu z toksyną i w jej neutralizacji. Uważa się, że fragmety F(ab)₂ są równie aktywne w łączeniu się z antygenem jak nietknięte cząsteczki IgG (11).

Polecając ten rodzaj IVIG zamiast TIG z dawką profilaktyczną 10–15 ml należy zwrócić uwagę na bardzo krótki okres półtrwania fragmentu IgG (18–23 godz.). Preparat taki jest polecany w zapobieganiu i leczeniu ostrych infekcji u osób z niedoborem przeciwciał. Przy wlewie dożylnym objętość dawki nie ogranicza możliwości jego stosowania tak jak to ma miejsce w przypadku preparatów domięśniowych (IMIG, Tetabulin).

Dla preparatów badanych w większej liczbie serii można wnioskować, że podatność produkcji firm stosujących różne metody jest bardzo zbliżona.

W ostatnim 5-leciu niektóre firmy przerwały produkcję preparatów IVIG lub też został zawieszony ich import. Polski preparat IVIG – Bioglobulina pokrywa zapotrzebowanie w ok. 30%. Z 57 serii importowanych preparatów IVIG przesłanych w 1994 r. do kontroli w PZH 16 stanowiła Bioglobulina a z importowanych preparatów IVIG najwyższe zapotrzebowanie było na Sandoglobulin (12 serii), Venimmun (11 serii), Gammavenin (8 serii) i Endobulin (5 serii).

Z prac, w których relacjonowano aktywność antyjęzcową IVIG, tylko w jednej, amerykańskiej, podano wyniki badań porównawczych (8). W USA zbadano 29 serii IVIG pochodzących z 6 wytwórni, w tym również z firmy Sandoz; biorąc pod uwagę różne metody badań, wyniki były zbliżone do naszych oznaczeń. Metodą ELISA w Sandoglobulinie stwierdzono bowiem poziom 5,9 (4–8) JA/ml a u nas, metodą TN 10,2 (5–20) JA/ml. W innym doniesieniu omawiano przypadki skutecznego zwalczania infekcji u 12 chorych z hypogammaglobulinemią dzięki podawaniu 0.6 g IVIG/kg co miesiąc przez 6 mies. co w efekcie utrzymywało poziom IgG w surowicy pacjentów na 500 mg/dl. W innej publikacji stwierdzono, że czas wolny od infekcji wydłużył się do 2 lat dzięki podawaniu 0,4 g IVIG/kg przez 28 dni (9, 13).

Reasumując, jest możliwe w profilaktyce i leczeniu tężca zastąpienie swoistej TIG preparatem IVIG a na życzenie klinicyстів Zakład Badania Surowic i Szczepionek PZH może na bieżąco informować o aktywności antytoksycznej aktualnie dostępnej serii ludzkiej normalnej immunoglobuliny.

A. Zakrzewska, D. Rymkiewicz

ANTI-TETANUS ANTIBODIES IN HUMAN NORMAL GAMMA GLOBULIN

SUMMARY

The level of anti-tetanus antibodies were measured in 791 lots of IMIG and 330 lots of IVIG of human normal gamma globulin. The antibody levels varied 15–80 IU/ml of IMIG lots and 5–20 IU/ml of IVIG lots. Every lot of human normal gamma globulin (IMIG or IVIG) having high anti-tetanus activity may be an acceptable alternative to specific tetanus immune globulin.

PIŚMIENNICTWO

1. Buckley R.H., Schiff R.I.: N. Eng. J. Med., 1991, 325, 110. – 2. Bernatowska E.: Pol. Arch. Med. Wewn., 1986, 76, 228. – 3. Bull. WHO: 1982, 60, 43 (Memorandum from WHO meeting).
- 4. Cracken i wsp.: Lancet, 1971, 1146. – 5. Gałzka A., Kardymowicz B.: Eur. J. Epid., 1989, 5, 474.
- 6. Hilfenbaus J. i wsp.: J. Biol. Stand., 1987, 15, 251. – 7. Kuszewski K. i wsp.: Przeg. Epid., 1992, 46, 329. – 8. Lee D.C., Lederman H.M.: J. Inf. Dis., 1992, 166, 642. – 9. Roifman C.M. i wsp.: Lancet, 1987, 1075. – 10. Rymkiewicz D. i wsp.: Przeg. Epid., 1993, 47, 387.–
11. Sedlacek H.H. i wsp.: Klin Wochenschr., 1983, 61, 723. – 12. Sporyńska Z., Rymkiewicz D.: Pol. Przeg. Chir., 1982, 54, 373. – 13. Willoughby i wsp.: N. Eng. J. Med., 1991, 325, 73. – 14. WHO Technical Report Series: 1978, nr 626 i 1989, nr 786.

Adres: Zakład Badania Surowic i Szczepionek, Państwowy Zakład Higieny,
00-791 Warszawa, ul. Chocimska 24