การศึกษาความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์เลือดชนิดอิมมูโนโกลบูลินที่จำหน่ายในประเทศไทยจากไตเตอร์ของแอนติบอดีหมู่เลือด ABO และ Rh

Study on Safety of Intravenous Immunoglobulin (IVIG) Marketed in Thailand from antibody titers of ABO and Rh blood group

กนิษฐา ภูวนาถนรานุบาล วิชชุดา จริยะพันธุ์ สายวรุฬ จดูรกิตตินันท์
สถาบันชีววัตถุ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

บทคัดย่อ

ผลิตภัณฑ์อิมมูโนโกลบูลินที่ให้ทางหลอดเลือดดำ (Intravenous immunoglobulin; IVIG) เป็นหนึ่งในผลิตภัณฑ์เลือดที่ผลิตจากการแยกพลาสมาของคนด้วยขบวนการ Cohn-fractionation สำหรับรักษาโรคที่ต้องการ passive immunity อย่างไม่จำเพาะเจาะจง ซึ่งพลาสมาของผู้บริจาคมีหมู่เลือดหลัก คือ ABO และ Rh ทำให้ผลิตภัณฑ์ IVIG มีแอนติบอดี A/B (แอนติบอดีต่อหมู่เลือด ABO) และ D (แอนติบอดีต่อหมู่เลือด Rh) เหลืออยู่ปริมาณหนึ่ง โดยอาจเป็นอันตรายต่อผู้ป่วยได้ ตำราฟาร์มาโคเปียของสหภาพยุโรป 9.0 ได้กำหนดเกณฑ์ที่ไม่ก่อให้เกิดอันตรายต่อผู้ได้รับยาเมื่อเทียบจากปริมาณโปรตีนของยา 25 กรัมต่อลิตร คือ anti-A/B ต้องมีค่าไตเตอร์น้อยกว่าหรือเท่ากับ 1:64 และ anti-D ต้องมีค่าไตเตอร์น้อยกว่า 1:8 จากการตรวจวิเคราะห์ไตเตอร์ของ anti-A/B และ anti-D ด้วยวิธี direct haemagglutination ในผลิตภัณฑ์ IVIG จำนวน 6 ยี่ห้อ รวม 54 รุ่น ซึ่งเป็นตัวอย่างจากผลิตภัณฑ์ทั้งหมดที่มีจำหน่ายในปี พ.ศ. 2558-2559 และยังไม่หมดอายุในปี พ.ศ. 2560

พบว่าผลิตภัณฑ์ส่วนใหญ่มีแอนติบอดี A/B อยู่ระหว่างไตเตอร์ 1:4 ถึง 1:16 และส่วนใหญ่ไม่พบแอนติบอดี D ในผลิตภัณฑ์ ซึ่งอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานที่กำหนด แสดงถึงผลิตภัณฑ์เลือดชนิดอิมมูโนโกลบูลินที่จำหน่ายในช่วงเวลาดังกล่าวมีความปลอดภัยต่อผู้ใช้

คำสำคัญ: ผลิตภัณฑ์อิมมูโนโกลบูลินที่ให้ทางหลอดเลือดดำ แอนติบอดีของหมู่เลือด ABO แอนติบอดีของหมู่เลือด Rh

Abstract

Human normal immunoglobulin for intravenous administration (IVIG) is a plasma-derived product produced from human plasma by Cohn-fractionation technique. It is intended for non-specific passive immunity treatment. The plasma for fractionation is obtained from human blood containing mainly ABO and Rh blood groups. The IVIG product may contain residual anti-A/B (antibody to ABO blood group) and anti-D (antibody to Rh blood group) that may be harmful to consumers. For safety of the product according to the European Pharmacopoeia 9.0 requirements, when analyzing the product at a protein concentration of 25 g/l, anti-A/B and anti-D titres should be less than or equal to 1:64 and less than 1:8, respectively. Six brands of IVIG products totally marketed in Thailand between 2015 and 2016 (not expired in 2017),

Were tested for anti-A/B and anti-D by direct haemagglutination method. The results revealed that all samples passed the test criteria and most anti-A/B and D titers were 1:4 to 1:16 and negative, respectively. In conclusion, these products were safe for consumers.

Keywords : Intravenous Immunoglobulin, Antibody of ABO blood group, Antibody of Rh blood group

บทนำ

ผลิตภัณฑ์อิมมูโนโกลบูลินที่ให้ทางหลอดเลือดดำ (Intravenous immunoglobulin; IVIG) เป็นหนึ่งในผลิตภัณฑ์เลือด (plasma-derived products) ชนิด human normal immunoglobulin ผลิตจากพลาสมาของคนสุขภาพดีประมาณ 1,000 ถึง 15,000 คนต่อการผลิต โดยแยกส่วนด้วยขบวนการ Cohn-fractionation ซึ่งผลิตเพื่อจำหน่าย ตั้งแต่ช่วงปี ค.ศ. 1980 เพื่อแทนการฉีดเข้ากล้ามเนื้อ และใช้รักษาโรคภูมิคุ้มกันบกพร่องปฐมภูมิหรือภูมิคุ้มกันบกพร่องแต่กำเนิด (primary immune deficiencies) และโรคภูมิคุ้มกันบกพร่องทุติยภูมิหรือภูมิคุ้มกันบกพร่องที่เกิดขึ้นภายหลังอย่างไม่จำเพาะเจาะจง (secondary immune deficiencies) ซึ่งคณะอนุกรรมการพัฒนาบัญชียาหลักแห่งชาติของประเทศไทยได้พิจารณาข้อบ่งใช้ที่จัดเป็นมาตรฐานการรักษาแล้ว 8 กรณี คือ โรคคาวาซากิระยะเฉียบพลัน (acute phase of Kawasaki disease) โรคที่เกิดการอักเสบของเส้นประสาท (Guillain-Barre syndrome) ที่มีอาการรุนแรง โรคกล้ามเนื้ออ่อนแรงชนิดร้ายระยะวิกฤต (myasthenia gravis, acute exacerbation หรือ myasthenic crisis) โรคที่เกิดจากภาวะภูมิต้านทานต่อเม็ดเลือดของตนเอง (autoimmune hemolytic anemia; AIHA) ที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษาตามขั้นตอนของมาตรฐานการรักษา และมีอาการรุนแรงที่อาจเป็นอันตรายถึงแก่ชีวิต โรคที่เกิดจากภาวะที่มีเม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟไซต์และฮีสติโอไซต์มาก ทำให้เกิดการกลืนกินเซลล์เม็ดเลือด (hemophagocytic lymphohistiocytosis; HLH) โรคเกล็ดเลือดต่ำที่เกิดจากภูมิต้านทานต่อเกล็ดเลือดของตนเอง (idiopathic thrombocytopenic purpura; ITP) ชนิดรุนแรง โรคผิวหนังที่เกิดจากภูมิต้านทานต่อผิวหนังของตนเอง (pemphigus vulgaris) ที่มีอาการรุนแรงและไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยามาตรฐาน และโรคภูมิคุ้มกันบกพร่องปฐมภูมิ (primary immunodeficiency diseases)[1,2,3,4]

ในระยะแรก IVIG นำมาใช้ในการรักษาโรคภูมิคุ้มกันบกพร่องชนิดปฐมภูมิ ในปริมาณต่ำคือ 0.2-0.6 กรัมต่อ

น้ำหนักผู้ป่วย 1 กิโลกรัมต่อเดือน ซึ่งเป็นหนึ่งในทางเลือกสำคัญสำหรับผู้ป่วยที่ร่างกายไม่สามารถผลิตแอนติบอดีได้ในปริมาณที่เพียงพอ และบางรายต้องฉีดซ้ำเป็นช่วงๆ เพื่อรักษาระดับการป้องกัน ต่อมามีการให้ IVIG ในปริมาณต่อครั้งที่สูงขึ้น เพื่อใช้ในการรักษาภาวะภูมิคุ้มกันต่อต้านตัวเอง การอักเสบ และโรคติดเชื้อต่างๆ คือ 1-2 กรัม ต่อน้ำหนักผู้ป่วย 1 กิโลกรัม โดยทั่วไปผู้ป่วยจะได้รับผลข้างเคียงจากยาน้อยมาก (น้อยกว่า 5 เปอร์เซ็นต์) เช่น ปวดหัว ปวดหลัง หนาวสั่น บิดเกร็ง เป็นต้น ซึ่งสามารถลดอัตราการให้ยาเพื่อบรรเทาอาการดังกล่าวได้ แต่มีรายงานพบว่าหากมีการใช้ในปริมาณที่สูงขึ้น อาจทำให้เกิดผลข้างเคียงมากขึ้น เช่น ภาวะลิ่มเลือดอุดตัน เยื่อหุ้มสมองอักเสบ ไตล้มเหลว รวมทั้งอาจก่อให้เกิดการแตกของเม็ดเลือดแดง (hemolysis) ซึ่งเกิดจากแอนติบอดีจากหมู่เลือด ABO และ Rh นั่นคือ anti-A/B และ anti-D ที่เป็นแอนติบอดีที่พบได้จากเลือดที่รับบริจาค[4,5,6,7,8,9,10]

สำหรับในประเทศไทยมีรายงานจากศูนย์เฝ้าระวังความปลอดภัยด้านผลิตภัณฑ์สุขภาพ กองแผนงานและวิชาการ สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา พบผู้ป่วยเกิดภาวะ autoantibody (anti-A) response ภายหลังผู้ป่วยได้รับผลิตภัณฑ์ IVIG ถึงแม้ว่ายังไม่มีข้อสรุปที่ชัดเจนว่าเกิดจาก IVIG แต่มีการแจ้งเตือนว่าเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์นี้อาจมีผลร้ายแรงต่อผู้ป่วย โดยเฉพาะในผู้ป่วยที่มีความเสี่ยงสูง เช่น ผู้ป่วยเด็ก ผู้ป่วยที่มีหมู่เลือด A, AB[11] เนื่องจากผู้ป่วยที่มีแอนติเจนบนผิวเซลล์เม็ดเลือดแดงจะทำปฏิกิริยากับ anti-A ที่อยู่ใน IVIG ได้ ซึ่งในตำราฟาร์มาโคเปียของสหภาพยุโรปกำหนดให้มีไตเตอร์ของแอนติบอดีหมู่เลือด ABO (anti-A และ anti-B) และ Rh (anti-D) ที่เหลืออยู่ในผลิตภัณฑ์จากขั้นตอนการผลิตที่ไม่ก่อให้เกิดอันตรายต่อผู้ได้รับยาเมื่อเทียบจากปริมาณโปรตีนของยา 25 กรัมต่อลิตร คือ anti-A และ anti-B ต้องมีค่าไตเตอร์น้อยกว่าหรือเท่ากับ 1:64 และ anti-D ต้องมีค่าไตเตอร์น้อยกว่า 1:8[12,13,14] ดังนั้นเพื่อให้มั่นใจในคุณภาพของผลิตภัณฑ์และเพื่อเฝ้าระวังความปลอดภัยต่อการใช้ผลิตภัณฑ์ของประชาชน สถาบันชีววัตถุในฐานะห้องปฏิบัติการของประเทศที่มีส่วนเกี่ยวข้องกับการควบคุมและเฝ้าระวังคุณภาพ ประสิทธิภาพและความปลอดภัยของยาชีววัตถุ จึงทำการศึกษาความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์ IVIG ที่ใช้ในประเทศ

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์ IVIG ที่จำหน่ายในประเทศจากไตเตอร์ของหมู่เลือด ABO และ Rh คือ anti-A, anti-B และ anti-D

ระยะเวลาการดำเนินงานวิจัย

1 ปี (ตุลาคม 2559 – กันยายน 2560)

วิธีดำเนินการวิจัย

สารเคมี สารมาตรฐาน และตัวอย่าง

สารละลายที่ใช้ในการเจือจาง: Phosphate buffered saline-Bovine serum albumin (PBS-BSA) โดยเติม bovine albumin (Cohn Fraction V) 2 กรัมต่อลิตรลงใน PBS เก็บที่อุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียส ก่อนใช้ต้องนำมาตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เพื่อให้อุณหภูมิของสารละลายเท่ากับอุณหภูมิห้อง

เม็ดเลือดแดง:

- สำหรับการตรวจวิเคราะห์ไตเตอร์ของแอนติบอดีในหมู่เลือด ABO ใช้เม็ดเลือดแดงที่ถูกย่อยด้วยเอนไซม์ปาเปนชนิดหมู่เลือด A, B และ O ที่ไม่มีแอนติเจน-ดี ที่ผิวเซลล์ ความเข้มข้นของเม็ดเลือดแดง 3 เปอร์เซ็นต์ โดยปริมาตรใน Alsever's solution ผลิตโดยศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาด เก็บที่อุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียส ก่อนใช้ต้องนำมาตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เพื่อให้อุณหภูมิของสารละลายเท่ากับอุณหภูมิห้อง

- สำหรับการตรวจวิเคราะห์ไตเตอร์ของแอนติบอดีในหมู่เลือด Rh ใช้เม็ดเลือดแดงที่ถูกย่อยด้วยเอนไซม์ปาเปนชนิดหมู่เลือด O ที่เป็น D-positive และ D-negative ความเข้มข้นของเม็ดเลือดแดง 3 เปอร์เซ็นต์ โดยปริมาตรใน Alsever's solution ผลิตโดยศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาด เก็บที่อุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียส ก่อนใช้ต้องนำมาตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เพื่อให้อุณหภูมิของสารละลายเท่ากับอุณหภูมิห้อง

สารมาตรฐาน: positive และ negative control ผลิตโดย European Directorate for the Quality of Medicines (EDQM)[13,14] โดยใช้ immunoglobulin (anti-A, anti-B antibodies test) Positive control BRP

และ Negative control BRP สำหรับการตรวจวิเคราะห์ไตเตอร์ของแอนติบอดีในหมู่เลือด ABO และใช้ immunoglobulin (anti-D antibodies test) BRP และ Immunoglobulin (anti-D antibodies test negative control) BRP สำหรับการตรวจวิเคราะห์ไตเตอร์ของแอนติบอดีในหมู่เลือด Rh

ตัวอย่าง IVIG: ตัวอย่างจากผลิตภัณฑ์ทั้งหมดที่จำหน่ายตั้งแต่ปี พ.ศ. 2558-2559 และยังไม่หมดอายุในปี พ.ศ. 2560 จำนวน 6 ยี่ห้อ (brand) คือ A (14 รุ่น), B (4 รุ่น), C (24 รุ่น), D (5 รุ่น), E (3 รุ่น) และ F (3 รุ่น) รวมทั้งหมด 54 รุ่น

การเตรียมสารมาตรฐานและตัวอย่าง

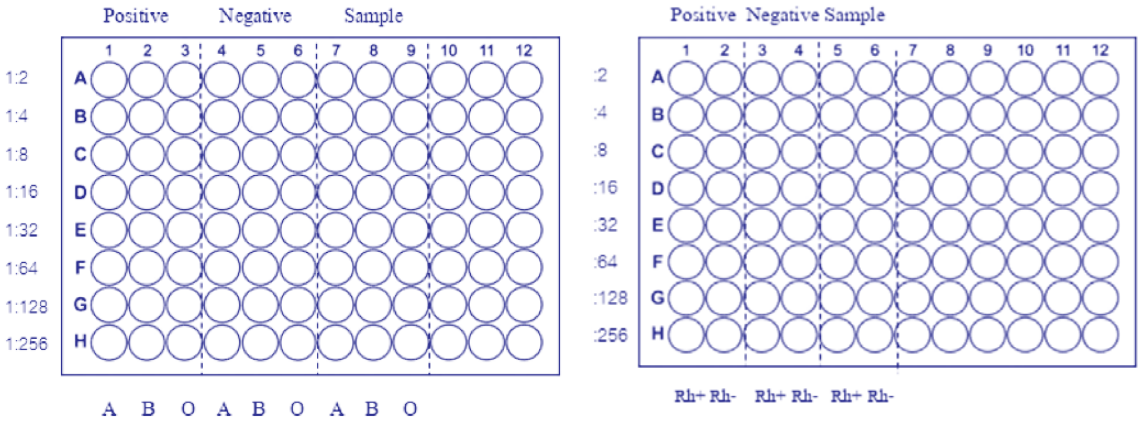
เจือจางตัวอย่าง IVIG และสารมาตรฐานให้มีปริมาณโปรตีนในช่วง 25 กรัมต่อลิตร ด้วยสารละลาย PBS-BSA เขย่าให้เข้ากันได้เป็นค่าการเจือจางแรกที่ 1:2 จากนั้นทำการเจือจางครั้งละ 2 เท่า (two-fold serial dilution) ให้ได้ความเข้มข้นที่ 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64, 1:128 และ 1:256 (0.195 กรัมต่อลิตร IVIG) ตามลำดับ

การตรวจวิเคราะห์ไตเตอร์

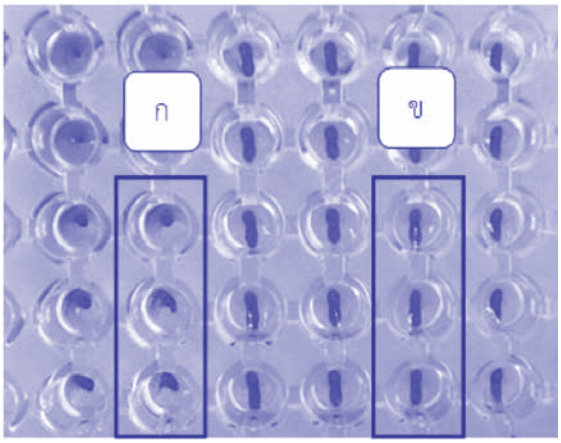
ทำการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่าง IVIG ตามมาตรฐานตำราฟาร์มาโคเปียของสหภาพยุโรปที่ผ่านการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีแล้ว ดังนี้

1. การตรวจวิเคราะห์ไตเตอร์ของแอนติบอดีในหมู่เลือด ABO ด้วยวิธี direct haemagglutination[13] โดยอาศัยหลักการว่าถ้าตัวอย่าง IVIG มี anti-A และ anti-B จะทำปฏิกิริยากับแอนติเจนบนผิวเซลล์เม็ดเลือดแดงชนิดหมู่เลือด A และ B ตามลำดับ ทำให้เกิดการจับกลุ่มของเม็ดเลือดแดง (agglutination) ที่บริเวณก้นหลุม ซึ่งวิธีการทดสอบทำได้โดยนำสารมาตรฐาน positive control, negative control และตัวอย่าง IVIG ในแต่ละค่าการเจือจางหยดลงในไมโครเพลทรูปตัววีขนาด 96 หลุม ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ค่าการเจือจางละ 3 ซ้ำ โดยในแต่ละซ้ำใส่เม็ดเลือดแดงชนิดหมู่เลือด A, B และ O ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ลงในแต่ละหลุม ตามลำดับ (รูปที่ 1ก) แล้วนำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่าเพลทนาน 10 วินาที จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงความเร็วสูงที่ความเร็ว 80 g. นาน 1 นาที แล้วนำไปตั้งบนฐานสำหรับวางเพลทเอียงทำมุม 70 องศา เป็นเวลา 4-5 นาที หรือเมื่อหลุมที่ใส่เม็ดเลือดแดงชนิดหมู่เลือด O มีการไหลตามแรงโน้มถ่วงอย่างสมบูรณ์ สังเกตผลด้วยตาเปล่าและบันทึกผลปฏิกิริยาโดยสังเกตเม็ดเลือดที่ยังคงเกาะกลุ่มเป็นก้อนอยู่ที่ก้นหลุมให้ผลเป็นบวก (รูปที่ 2ก) โดยค่าไตเตอร์จะเป็นค่าการเจือจางสูงสุดที่ให้ผลเป็นบวก แต่ถ้ามีการไหลตามแรงโน้มถ่วงแสดงว่าไม่เกิดปฏิกิริยาการจับกลุ่มของเม็ดเลือดแดงจะแปลผลเป็นลบ (รูปที่ 2ข)

2.การตรวจวิเคราะห์ไตเตอร์ของแอนติบอดีในหมู่เลือด Rh ด้วยวิธีdirect haemagglutination[14] โดยอาศัยหลักการว่าถ้าตัวอย่าง IVIG มี anti-D จะทำปฏิกิริยากับแอนติเจนบนผิวเซลล์เม็ดเลือดแดงชนิดหมู่เลือด Rh บวก ทำให้เกิดการจับกลุ่มของเม็ดเลือดแดงที่บริเวณก้นหลุม ซึ่งวิธีการทดสอบทำได้โดยนำสารมาตรฐาน positive control, negative control และตัวอย่าง IVIG ในแต่ละค่าการเจือจางหยดลงในไมโครเพลทปริมาตร 20 ไมโครลิตร ค่าการเจือจางละ 2 ซ้ำ โดยในแต่ละซ้ำใส่เม็ดเลือดแดงชนิดหมู่เลือด Rh บวก (D-positive) และลบ (D-negative) ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ลงในแต่ละหลุมตามลำดับ (รูปที่ 1ข) แล้วนำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่าเพลทนาน 10 วินาที จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงความเร็วสูงที่ความเร็ว 80 g. นาน 1 นาที แล้วนำไปตั้งบนฐานสำหรับวางเพลทเอียงทำมุม 70 องศา เป็นเวลา 4-5 นาที หรือเมื่อหลุมที่ใส่เม็ดเลือดแดงชนิดหมู่เลือด Rh ลบมีการไหลลงตามแรงโน้มถ่วงอย่างสมบูรณ์ สังเกตผลด้วยตาเปล่าและบันทึกผลโดยสังเกตเม็ดเลือดที่ยังคงเกาะกลุ่มเป็นก้อนอยู่ที่ก้นหลุมให้ผลเป็นบวก โดยค่าไตเตอร์จะเป็นค่าการเจือจางสูงสุดที่ให้ผลเป็นบวก (รูปที่ 2ก) แต่ถ้ามีการไหลลงตามแรงโน้มถ่วงแสดงว่าไม่เกิดปฏิกิริยาการจับกลุ่มของเม็ดเลือดแดงให้ผลเป็นลบ (รูปที่ 2ข)



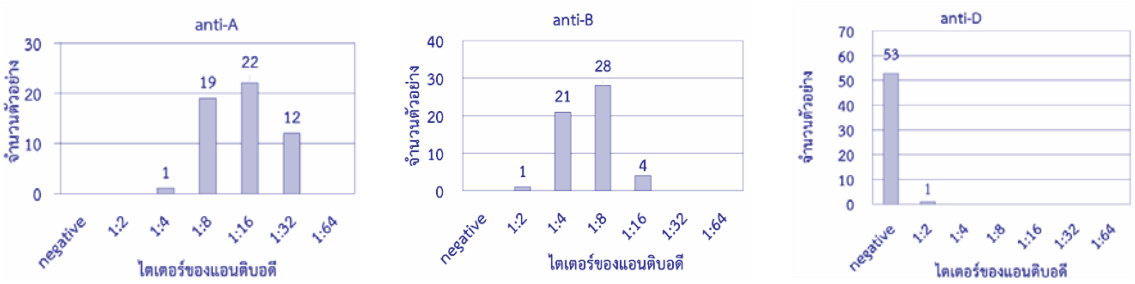
รูปที่ 1 แสดงวิธีการเตรียมสารในไมโครเพลทรูปตัววีขนาด 96 หลุม ของการตรวจวิเคราะห์ไตเตอร์ของแอนติบอดีในหมู่เลือด ABO (ก) และไตเตอร์ของแอนติบอดีในหมู่เลือด Rh (ข)



รูปที่ 2 (ก) ผลบวกของหลุมที่เกิดการเกาะกลุ่มของเม็ดเลือดแดงที่ก้นหลุม
(ข) ผลลบของหลุมที่ไม่เกิดปฏิกิริยาการจับกลุ่มของเม็ดเลือดแดง

ผลการวิจัย

ผลการตรวจวิเคราะห์ไตเตอร์ของแอนติบอดีในหมู่เลือด ABO (anti-A และ anti-B) และ Rh (anti-D) จำนวน 6 ยี่ห้อ รวม 54 รุ่น พบว่าไตเตอร์ของ anti-A มีค่าอยู่ระหว่างไตเตอร์ 1:4 ถึง 1:32 โดยมีไตเตอร์ 1:16 มากที่สุด คิดเป็นร้อยละ 40.74 รองลงมาคือที่ไตเตอร์ 1:8, 1:32 และ 1:4 คิดเป็นร้อยละ 35.19, 22.22 และ 1:85 ตามลำดับ ในขณะที่ไตเตอร์ของ anti-B มีค่าอยู่ระหว่าง 1:2 ถึง1:16 โดยมีไตเตอร์ 1:8 มากที่สุด คิดเป็นร้อยละ 51.85 รองลงมาคือที่ไตเตอร์ 1:4, 1:16 และ 1:2 คิดเป็นร้อยละ 38.89, 7.41 และ 1.85 ตามลำดับ และไตเตอร์ของ anti-D มีค่าอยู่ระหว่าง negative ถึง 1:2 โดยมีไตเตอร์ที่ให้ผล negative มากที่สุด คิดเป็นร้อยละ 98.15 รองลงมาคือที่ไตเตอร์ 1:2 คิดเป็นร้อยละ 1.85 (รูปที่ 3)



รูปที่ 3 ไตเตอร์ของแอนติบอดี anti-A, anti-B และ anti-D ในตัวอย่าง IVIG 54 รุ่น ที่ตรวจวิเคราะห์ด้วยวิธี direct haemagglutination

เมื่อเปรียบเทียบระหว่างผลิตภัณฑ์ 6 ยี่ห้อ คือ A, B, C, D, E และ F จำนวน 54 รุ่น พบว่า ยี่ห้อ A, C, D มีไตเตอร์ของ anti-A สูงสุดที่ 1:32 คิดเป็นร้อยละ 3.70, 14.81 และ 3.70 ตามลำดับ และยี่ห้อ A และ D มีไตเตอร์ของ anti-B สูงสุดที่ 1:16 คิดเป็นร้อยละ 5.56 และ 1.85 ตามลำดับ (ตารางที่ 1ก และรูปที่ 4) ในขณะที่ส่วนใหญ่ของตัวอย่างที่ตรวจวิเคราะห์ไม่พบไตเตอร์ของ anti-D คิดเป็นร้อยละ 98.15 ยกเว้นตัวอย่างในยี่ห้อ A ที่มีเพียง 1 รุ่นที่พบไตเตอร์ของ anti-D ที่ 1:2 คิดเป็นร้อยละ 1.85 (ตารางที่ 1ข และรูปที่ 4)

ตารางที่ 1ก ร้อยละของความถี่ที่พบ anti-A และ anti-B ในแต่ละไตเตอร์ของตัวอย่าง IVIG 6 ยี่ห้อ

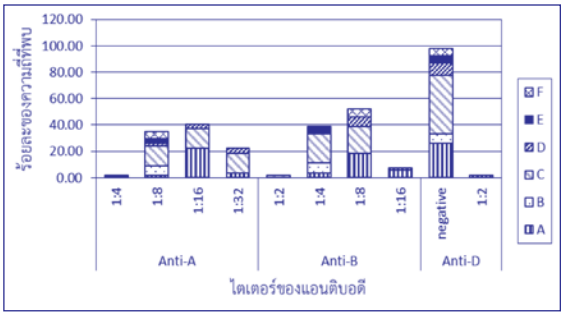
ยี่ห้อ	จำนวนตัวอย่าง	ร้อยละของความถี่ที่พบ											
		Anti-A						Anti-B					
		Negative	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	Negative	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32
A	15	-	-	1.85	22.22	3.70	-	-	-	3.70	18.52	5.56	-
B	4	-	-	7.41	-	-	-	-	-	7.41	-	-	-
C	24	-	-	14.81	14.81	14.81	-	-	1.85	22.22	20.37	-	-
D	5	-	-	1.85	3.70	3.70	-	-	-	-	7.41	1.85	-
E	3	-	1.85	3.70	-	-	-	-	-	5.56	-	-	-
F	3	-	-	5.56	-	-	-	-	-	-	5.56	-	-
Positive control	10	-	-	-	-	70.00	30.00	-	-	-	-	80.00	20.00
Negative control	10	100.00	-	-	-	-	-	100.00	-	-	-	-	-

หมายเหตุ ผลการทดสอบจะเชื่อถือได้ (valid test) เมื่อไตเตอร์ของ positive control ของ anti-A และ anti-B มีค่า 1:32 ถึง 1:64 และ 1:16 ถึง 1:32 ตามลำดับ และไตเตอร์ของ negative control ของ anti-A และ anti-B ให้ผลเป็น negative

ตารางที่ 1ข ร้อยละของความถี่ที่พบ anti-D ในแต่ละไตเตอร์ของตัวอย่าง IVIG 6 ยี่ห้อ

ยี่ห้อ	จำนวนตัวอย่าง	ร้อยละของความถี่ที่พบ Anti-D			
		Negative	1:2	1:4	1:8
A	15	25.93	1.85	-	-
B	4	7.41	-	-	-
C	24	44.44	-	-	-
D	5	9.26	-	-	-
E	3	5.56	-	-	-
F	3	5.56	-	-	-
Positive control	7	-	-	-	100.00
Negative control	7	100.00	-	-	-

หมายเหตุ ผลการทดสอบจะเชื่อถือได้ (valid test) เมื่อไตเตอร์ของ positive control ของ anti-D มีค่า 1:8 และไตเตอร์ของ negative control ของ anti-D ให้ผลเป็น negative



รูปที่ 4 แสดงการเปรียบเทียบร้อยละของความถี่ที่พบ anti-A, anti-B และ anti-D ในแต่ละไตเตอร์ของตัวอย่าง IVIG 6 ยี่ห้อ

อภิปรายผล

ไตเตอร์ของแอนติบอดีของหมู่เลือด ABO (anti-A และ anti-B) และ Rh (anti-D) ทั้ง 54 รุ่น มีค่าอยู่ในเกณฑ์ที่กำหนดไว้ในตำราฟาร์มาโคเปียของสหภาพยุโรป 9.0 คือ ต้องมีค่าน้อยกว่าหรือเท่ากับไตเตอร์ 1:64 และน้อยกว่าไตเตอร์ 1:8 ตามลำดับ และที่ยังคงตรวจพบแอนติบอดีในผลิตภัณฑ์นั้น เกิดจากการผลิตที่ใช้พลาสมาของผู้บริจาคซึ่งมีทั้งหมู่เลือด A, B, AB และ O ซึ่งพลาสมาของหมู่เลือด A และ B จะมีแอนติบอดี B และ A อยู่ในพลาสมา ตามลำดับ ในขณะที่หมู่เลือด AB จะไม่มีแอนติบอดีในพลาสมา และหมู่เลือด O จะมีทั้งแอนติบอดี A และ B ในพลาสมา ส่วนหมู่เลือดระบบ Rh มีความสำคัญรองลงมาจากหมู่เลือดระบบ ABO ซึ่งประกอบด้วยแอนติเจน 5 ชนิดคือ D, C, c, E และ e โดยแอนติเจน D เป็นแอนติเจนที่มีความสำคัญที่สุด เพราะมีความสามารถในการกระตุ้นให้เกิดปฏิกิริยาตอบสนองทางภูมิคุ้มกัน (immunogenicity) สูงที่สุดและเป็นแอนติเจนที่กำหนดความเป็น Rh บวก หรือ Rh ลบ โดยหากตรวจพบแอนติเจน D บนผิวเม็ดเลือดแดงแสดงว่าเป็น Rh บวก หากตรวจไม่พบแสดงว่า เป็น Rh ลบ[15,16] หากในผลิตภัณฑ์มีปริมาณ anti-A/B และ/หรือ D มากเกินเกณฑ์กำหนดจะเป็นอันตรายทำให้เม็ดเลือดแดงแตกในผู้รับที่ผิวเม็ดเลือดแดงมีแอนติเจนต่อแอนติบอดีดังกล่าว[11,17]

นอกจากนี้พบว่า ปริมาณแอนติบอดีในแต่ละยี่ห้อมีความแตกต่างกัน อาจเกิดจากแหล่งที่มาของพลาสมาที่ได้รับจากผู้บริจาคต่างพื้นที่ หรือความสามารถของแต่ละกระบวนการผลิตในการกำจัดแอนติบอดีที่มีผลกระทบต่อความปลอดภัยให้เหลือน้อยที่สุด รวมทั้งหากพลาสมาจากผู้บริจาคส่วนใหญ่เป็นหมู่เลือด O โอกาสที่จะมีปริมาณของ

anti-A และ anti-B จะสูงมากกว่าจากผู้บริจาคที่มีหมู่เลือด A หรือ B จึงต้องขึ้นอยู่กับกระบวนการในการผลิตที่จะกำจัดแอนติบอดีให้เหลือน้อยที่สุด ที่ไม่ก่อให้เกิดอันตรายกับผู้ป่วย สำหรับ anti-D ที่พบว่า มีปริมาณน้อยมาก เนื่องจากคนส่วนใหญ่มีหมู่เลือด Rh บวก 82-93 เปอร์เซ็นต์ และมีหมู่เลือด Rh ลบ 2-18 เปอร์เซ็นต์ โดยหมู่เลือด Rh บวก จะมีแอนติเจน D อยู่บนผิวเซลล์ และไม่มี anti-D ในพลาสมา จึงมีโอกาสน้อยมากที่จะพบ anti-D ในผลิตภัณฑ์ที่ผลิตจากพลาสมาของผู้บริจาค และเมื่อเทียบผลิตภัณฑ์ในยี่ห้อเดียวกัน พบว่าปริมาณ anti-A/B มีความแตกต่างกันของไตเตอร์ ± 1 titer (ตารางที่ 1) ซึ่งแสดงถึงความสม่ำเสมอของการผลิต [5,18,19,20]

สรุปผล

ผลิตภัณฑ์ IVIG ที่จำหน่ายในประเทศไทยตั้งแต่ปี พ.ศ. 2558-2559 และยังไม่หมดอายุในปี พ.ศ. 2560 รวม 54 รุ่น มีความปลอดภัยเมื่อพิจารณาจากผลการตรวจวิเคราะห์ไตเตอร์ของแอนติบอดี ABO และ Rh ซึ่งไม่เกินที่กำหนดในตำราฟาร์มาโคเปียของสหภาพยุโรป แสดงถึงการควบคุมการผลิตและการควบคุมคุณภาพยาสำเร็จรูปที่เหมาะสม

ข้อเสนอแนะ

การศึกษานี้ เป็นการศึกษาเฉพาะผลิตภัณฑ์ที่จำหน่ายในช่วงเวลาดังกล่าว ซึ่งยังมีบางผลิตภัณฑ์ที่ขึ้นทะเบียนแล้วแต่ไม่ได้จำหน่ายในช่วงปีที่ศึกษา ดังนั้นหากมีผลิตภัณฑ์ที่ขึ้นทะเบียนและมีการจำหน่ายนอกเหนือจากยี่ห้อที่ศึกษานี้ควรมีการศึกษาเพิ่มเติม และนอกจากปริมาณของไตเตอร์ anti-A/B และ anti-D ที่มีผลต่อผู้รับหากเกินเกณฑ์กำหนดแล้ว ยังมีปัจจัยอื่นที่น่าสนใจ เช่น Anti-HBsAg, IgA เป็นต้น เนื่องจากผลิตภัณฑ์ IVIG เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้รับจากผู้รับบริจาค ถึงแม้จะมีการตรวจสอบเบื้องต้นว่ามีความปลอดภัยจากผู้ผลิตแล้ว แต่ยังคงต้องมีการเฝ้าระวังคุณภาพผลิตภัณฑ์จากหน่วยงานควบคุมกำกับอย่างต่อเนื่อง

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยครั้งนี้ ดำเนินการโดยใช้งบประมาณของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ และขอขอบคุณนายอุดม ติ่งต้อย และนางสาริกา เมฆฉาย ฝ่ายผลิตน้ำยาแอนติซีรัมและผลิตภัณฑ์เซลล์ ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย ที่ให้คำปรึกษา และให้ความอนุเคราะห์ในการผลิตเม็ดเลือดแดงที่ใช้ในการตรวจวิเคราะห์

เอกสารอ้างอิง

1. Hartung, H.P., Mouthon, L., Ahmed, R., Jordan, S., Laupland, K.B. & Jolles, S. (2009). Clinical applications of intravenous immunoglobulins (IVIg) beyond immunodeficiencies and neurology. *Clinical & Experimental Immunology*, 158 (Supplement 1), 23-33.
2. คณะอนุกรรมการพัฒนาบัญชียาหลักแห่งชาติ. (2553). *Human normal immunoglobulin, intravenous (IVIG).* ใน คู่มือการใช้ยาอย่างสมเหตุผล ตามบัญชียาหลักแห่งชาติ บัญชี จ(2), หน้า 41-54. กรุงเทพฯ: สำนักงานประสานการพัฒนาบัญชียาหลักแห่งชาติ กองควบคุมยา สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา.
3. Jolles, S., Sewell, W.A.C & Misbah, S.A. Clinical uses of intravenous immunoglobulin. (2005). *Clinical & Experimental Immunology*, 142, 1–11.
4. Mohamed, M. Intravenous immunoglobulin-associated hemolysis: risk factor, challenges, and solutions. (2016). *International Journal of Clinical Transfusion Medicine*, 4, 121-131.
5. Thomas, M.J., Misbah, S.A., Chapel, H.M., Jones, M., Elrington, G. & Newsom-Davis, J. (1993). Hemolysis after high-dose intravenous Ig. *Blood*, 82, 3789.
6. Kahwaji, J., Barker, E., Pepkowitz, S., Klapper, E., Villicana, R., Peng, A., et al. (2009). Acute Hemolysis After High-Dose Intravenous Immunoglobulin Therapy in Highly HLA Sensitized Patients. *Clinical Journal of American Society of Nephrology*, 4(12), 1993-1997.

7. Duhem, C., Dicato, M.A. & Ries, F. Side-effects of intravenous immune globulins. (1994). *Clinical & Experimental Immunology*, 97 (Supplement 1), 79-83.
8. Daw, Z., Padmore, R., Neurath, D., Cober, N., Tokessy, M., Desjardins, D., et. Al. (2008). Hemolytic transfusion reactions after administration of intravenous immune (gamma) globulin: a case series analysis. *Transfusion*, 48, 1598-1601.
9. Desborough, M.J., Miller, J., Thorpe, S.J., Murphy, M.F., & Misbah, S.A. (2014). Intravenous immunoglobulin-induced haemolysis: a case report and review of the literature. *Transfusion Medicine*, 24, 219–226.
10. Thorpe, S.J., Fox, B.J., Dolman, C.D., Lawrence, J. & Thorpe, R. (2003). Batches of intravenous immunoglobulin associated with adverse reactions in recipients contain atypically high anti-Rh D activity. *Vox Sanguinis*, 85, 80-84.
11. ศูนย์เฝ้าระวังความปลอดภัยด้านผลิตภัณฑ์สุขภาพ กองแผนงานและวิชาการ สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา. *Intravenous Immunoglobulin (IVIG) กับการเกิดภาวะ autoantibody response* [ออนไลน์]. เข้าถึงเมื่อ 12 ธันวาคม 2560. จาก: http://thaihpvc.fda.moph.go.th/thaihvc/Public/News/uploads/hpvc_2_5_0_100477.pdf.
12. European Directorate for the Quality of Medicines and Healthcare (EDQM). (2017). Human normal immunoglobulin for intravenous administration. *In European Pharmacopoeia 9.0*, page 2687-2689. Nördlingen: Druckerei C.H. Beck.
13. European Directorate for the Quality of Medicines and Healthcare (EDQM). (2017). 2.6.20 Anti-A and Anti-B haemagglutinins. In *European Pharmacopoeia 9.0*, page 213-214. Nördlingen: Druckerei C.H. Beck.
14. European Directorate for the Quality of Medicines and Healthcare (EDQM). (2017). 2.6.26 Test for anti-D antibodies in human immunoglobulin. *In European Pharmacopoeia 9.0*, page 225-226. Nördlingen: Druckerei C.H. Beck.
15. พิมล เชี่ยวศิลป์. (2548, ตุลาคม-ธันวาคม). บทความฟื้นวิชา Hemolytic Transfusion Reaction. *วารสารโลหิตวิทยาและเวชศาสตร์บริการโลหิต*, 15(4), 265-270.
16. พัฒน์ศิริ อังกสิทธิ์, สมเชษฐ์ เดชะพันธ์, ยศธร จงศิริกุล, ปราโมทย์ ศรีวาณิชรักษ์, มานิดา เศรษฐการ, สิณีนาฏ อุทา และคณะ. (2554, มกราคม-มีนาคม). การตรวจแอนติเจน D ของหมู่เลือดระบบ Rh ด้วยวิธีไมโครเพลท. *วารสารโลหิตวิทยาและเวชศาสตร์บริการโลหิต*, 21(1), 15-21.
17. Thorpe, S.J. (2015). Specifications for anti-A and anti-B in intravenous immunoglobulin: history and rationale. *Transfusion*, 55, S80-S85.
18. Darnborough, J. (1963). The anti-A and anti-B antibody content of pooled plasma. *Journal of Clinical Pathology*, 16(74),74-78.
19. Thorpe, S.J., Fox, B.J, Dolman, C.D. & Thorpe, R. (2005). Anti-A and anti-B activity in batches of different intravenous immunoglobulin products determined using a direct haemagglutination method. *Biologicals*, 33,111-116.
20. The American National Red Cross. (2017). *Blood Types*. Retrived December 27, 2017. Website: www.redcrossblood.org/learn-about-blood/blood-types.html.