

ĐÁNH GIÁ ĐỘ AN TOÀN CỦA DỊ NGUYÊN DERMATOPHAGOIDES PTERONYSSINUS TRÊN NGƯỜI TÌNH NGUYỆN

HUYỀN QUANG THUẬN, NGUYỄN ĐẶNG DŨNG
Học viện Quân y

TÓM TẮT

Mở đầu: kiểm tra an toàn phải được thực hiện đối với dị nguyên trước khi dị nguyên đó được sử dụng rộng rãi trên lâm sàng. Mạt bụi nhà, đặc biệt loài dermatophagoides pteronyssinus (D.pt), là thành phần quan trọng nhất quyết định hoạt tính kháng nguyên của bụi nhà và dị nguyên bụi nhà chỉ mang tính kháng nguyên khi có mặt mật trong bụi. chúng tôi đã tiến hành đánh giá độ an toàn của dị nguyên D.pt trên người tình nguyện.

Đối tượng và phương pháp: trên 150 người tình nguyện khoẻ mạnh, không có tiền sử dị ứng. tiến hành test lấy da và test kích thích với dị nguyên D.pt.

Kết luận: tiến hành đánh giá độ an toàn của dị nguyên d.pt trên chuột trước khi thử trên người tình nguyện thấy dị nguyên thực sự an toàn, không độc. ngay sau tiến hành test lấy da có 5 trường hợp hơi mệt, sau test kích thích có 7 trường hợp thấy hơi mệt, chủ yếu là do tâm lý căng thẳng, các triệu chứng sau đó

hết ngay. sau 30 phút theo dõi tại khoa và theo dõi 3 ngày thấy 150 người đều không bị các triệu chứng: mệt, nhức đầu, chóng mặt, buồn nôn, choáng.

Từ khóa: *dermatophagoides pteronyssinus*.

SUMMARY

Introduction: safety inspection must be performed prior to allergen allergens that are widely used in clinical practice. House dust mites, especially species Dermatophagoides pteronyssinus (D.pt), is the most important component to the activities of house dust antigens and allergens in house dust antigen is indicative of the presence of dust mites. We then evaluated the safety of allergen D.pt on volunteers.

Subjects and Methods: 150 healthy volunteers, no history of allergies. Conduct tests and take the skin test to allergens stimulate D.pt.

Conclusion: assessing the safety of d.pt allergens tested in mice before allergen volunteers that really safe, non-toxic. after conducting test case hides a 5 bit tired, after stimulation test case that there are 7 little tired, mainly due to psychological stress, symptoms all right then. After 30 minutes in the department monitor and track 3 days 150 people have not seen the symptoms: fatigue, headache, dizziness, nausea, fainting.

Keywords: *dermatophagoides pteronyssinus*

ĐẶT VẤN ĐỀ

Vấn đề chuẩn hóa hàm lượng các dị nguyên trong các chất và các loại chế phẩm khác nhau đang là trung tâm chú ý của các nhà dị ứng học. Cho đến nay chưa có một hệ thống quốc tế thống nhất nào về tiêu chuẩn hóa các dị nguyên. Khó khăn cơ bản của việc xây dựng một hệ thống như vậy là do thế giới dị nguyên cực kỳ rộng rãi và đa dạng. bản chất hóa học và các cách tác dụng của các dị nguyên lên cơ thể, cũng như hoạt tính kháng nguyên của chúng rất đa dạng và về nhiều phương diện chưa được nghiên cứu đầy đủ. Người ta phân biệt hàm lượng của một chất có tính dị nguyên nào đó (protein, peptit, glycoprotein...) theo đơn vị khối lượng (g, mg) của chất liệu ban đầu và hoạt tính sinh học của dị nguyên, biểu hiện ở các liều da hoặc ở khả năng gây phản ứng miễn dịch ngoài cơ thể với các kháng thể hoặc với các tế bào.

Chuẩn hóa dị nguyên trải qua các giai đoạn: xác định các dịch chiết chuẩn (quy chiếu), xác định các phương pháp kiểm tra đối với các dịch chiết này, các chuẩn mực chấp nhận và các đơn vị sinh học biểu thị hoạt tính dị nguyên đánh giá độ an toàn của dị nguyên trên động vật thực nghiệm và cuối cùng là đánh giá độ an toàn trên người tình nguyện trước khi chế phẩm sử dụng trên người bệnh.

Kiểm tra an toàn phải được thực hiện đối với dị nguyên trước khi dị nguyên đó được sử dụng rộng rãi trên lâm sàng. vì dị nguyên là một trong những kháng nguyên dị nguyên nên cơ thể sẽ có phản ứng phụ ít hoặc nhiều sau khi tiêm. So sánh với sự xuất hiện các kháng thể bảo vệ thì kiểu và cơ chế xuất hiện phản ứng phụ là phức tạp và đa dạng, do đó việc kiểm tra an toàn cần đặc biệt chú trọng. điều kiện nghiên cứu dị nguyên trong phòng thí nghiệm xuất phát từ những yêu cầu của dược điển quốc gia đối với các chế phẩm

thuốc. điều này có nghĩa là ở Việt Nam có thể thực hiện giai đoạn kiểm nghiệm dị nguyên mới trên người tình nguyện, cũng như xác định liều chuẩn đoán hợp lý của chúng hoặc sơ đồ điều trị lâm sàng dựa trên cơ sở các kết quả thực nghiệm lâm sàng đối với các bệnh nhân dị ứng.

Trong điều chế dị nguyên việc kiểm tra đánh giá chất lượng dị nguyên là rất quan trọng: sau các bước đánh giá về các chỉ tiêu lý-hoá - sinh học - miễn dịch thì khâu quan trọng nhất là chế phẩm dị nguyên phải đảm bảo độ an toàn trên động vật thực nghiệm và trên người tình nguyện trước khi thử nghiệm lâm sàng một cách rộng rãi.

Việc đánh giá chất lượng dị nguyên được chuyển từ các thử nghiệm trong phòng thí nghiệm sang đánh giá trên người đã đánh giá một bước quan trọng trong lĩnh vực điều chế dị nguyên. những lo ngại về tính an toàn, lợi ích của bệnh nhân và cộng đồng có thể dẫn đến tranh luận về những vấn đề đạo đức phức tạp. trong khi sự đáp ứng ở người về bản chất thì rất khác nhau và cần phải xem xét để đánh giá đúng hiệu lực của dị nguyên. các thử nghiệm lâm sàng được tiến hành sau những nghiên cứu về độ an toàn trên người tình nguyện. số liệu về tính an toàn thu được ở nghiên cứu được giới hạn trong việc ghi chép lại số liệu vì các phản ứng thường xuất hiện và xác định được các phản ứng phụ nghiêm trọng, hiếm, khi sử dụng dị nguyên.

Nhiệm vụ thử nghiệm không chỉ có đánh giá hoạt tính đặc hiệu của dị nguyên mà còn xác nhận độ vô độc của nó. các dị nguyên để chẩn đoán các bệnh dị ứng được công nhận vô độc khi ở phần lớn bệnh nhân không có phản ứng quá mức và phản ứng phụ. các dị nguyên chẩn đoán không được gây nhức đầu, sốt, buồn nôn, chóng mặt, choáng; các chế phẩm cần phải tìm ra sự khác biệt đáng tin cậy về thống kê trong kết quả chẩn đoán giữa nhóm kiểm tra và nhóm quy định. Để thử nghiệm bất kỳ dị nguyên nào trên trẻ yêu cầu có giấy phép đặc biệt và chỉ thực hiện sau khi hoàn thành thử nghiệm trên người lớn. Để đánh giá các dạng dị nguyên điều trị người ta nghiên cứu sâu miễn dịch học và lâm sàng của bệnh nhân nhằm có chỉ dẫn khách quan để chỉ định liệu pháp giảm mẫn cảm đặc hiệu. Hàng loạt các công trình nghiên cứu của các tác giả trên thế giới đã chứng minh rằng mạt bụi nhà, đặc biệt loài *Dermatophagoides pteronyssinus*, là thành phần quan trọng nhất quyết định hoạt tính kháng nguyên của bụi nhà và dị nguyên bụi nhà chỉ mang tính kháng nguyên khi có mạt mạt trong bụi. Để có thể đưa dị nguyên D.pt vào thực tế điều trị, chúng tôi đó tiến hành đánh giá độ an toàn của dị nguyên này trên người tình nguyện

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng nghiên cứu

* Dị nguyên D.pt

* Chuột nhắt để đánh giá sơ bộ độc tính

* Nhóm người tình nguyện:

- 150 người khoẻ lứa tuổi từ 18 - 55 tuổi, không có tiền sử dị ứng (sinh viên, công chức). test lấy da âm tính được thử với dị nguyên D.pt.

2. Phương pháp nghiên cứu.

Thử độ an toàn trên người tình nguyện chúng tôi chọn 150 người tình nguyện khoẻ mạnh, không có biểu hiện dị ứng, tiến hành test lấy da và test kích thích

+ Test lấy da (prick test)

Cách làm:

nhỏ giọt dung dịch dị nguyên lên mặt trước trong da cẳng tay, dùng kim đặt một góc 45° và lấy ngược lên, yêu cầu da không được chảy máu.

- Nốt ngứa: bằng dung môi hoà loãng dn.

- Nốt dn d.pt nồng độ 1/50.000.

- Nốt dn d.pt nồng độ 1/5000.000

+ Test kích thích mũi (nasal provocation test)

Nguyên lý: nhỏ dung dịch dị nguyên d.pt vào mũi để đánh giá các triệu chứng phụ

Theo dõi các triệu chứng sau 30 phút và trong 3 ngày: mệt, nhức đầu, chóng mặt, buồn nôn, choáng.

Thử nghiệm này được tiến hành để đánh giá độ an toàn của dn trên người tình nguyện trước khi đưa vào sử dụng để chẩn đoán và điều trị trên bệnh nhân. yêu cầu phải đạt: không có các triệu chứng trên hoặc nếu có thì chỉ thoáng qua và không kéo dài quá 24 giờ.

KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

1. Thử độ an toàn trên động vật thí nghiệm.

* Sau khi tiêm dung môi dị nguyên và dn d.pt có nồng độ 1/50.000 và 1/500.000, lần lượt trên 3 lô chuột. Sau tiêm 1 phút, thấy chuột có hiện tượng run nhẹ toàn thân. triệu chứng này giảm dần và hết sau 20 -30 phút. những ngày sau đó, chuột trở lại bình thường ở lô chứng, các lô thử nghiệm không có con chuột nào chết trong vòng 10 ngày.

* Thử độc tính cấp tiến hành trên chuột nhắt trắng bằng đường tiêm dưới da Lichfield-Wilcoxon.

Kết quả thử độc tính cấp được trình bày ở bảng sau:

Bảng 1. Kết quả thử độc tính cấp

Kết quả	Lô chứng 0,4ml/ dung môi dn d.pt	Lô thử cho tiêm dung dịch dị nguyên 1/500 với liều ml/10g thể trọng			
		0,1	0,2	0,3	0,4
Ngay sau khi tiêm	Bình thường	Sốc ở các mức độ khác nhau, các triệu chứng giảm nhanh và hết sau 1 giờ			
Sau 72 giờ	Bình thường	Không con nào bị chết.			

Kết quả ở bảng trên cho thấy ngay sau khi tiêm, chuột ở lô chứng đều bình thường. Ở các lô thử nghiệm tất cả các con chuột đều run mạnh, có lúc co giật, cường độ co giật tăng lên theo liều dùng chế phẩm dị nguyên tiêm vào chuột tăng. co giật kéo dài khoảng 20 - 30 phút sau đó giảm dần và hết sau 1 giờ.

Tất cả chuột ở lô chứng và các lô thử nghiệm không có con nào chết trong vòng 72 giờ.

Như vậy trên người liều dùng tối đa là 0,5ml dung dịch nồng độ 1/50.000, tương đương với 0,0002 mg/kg cân nặng (tính trung bình người nặng 50kg).

Trên chuột dùng tối liều tối đa 80mg/kg thể trọng tức là gấp 400.000 lần liều dùng trên người mà chưa có con chuột thử nghiệm nào chết, điều này chứng tỏ chế phẩm dị nguyên D.pt có độc tính rất thấp, do vậy chúng tôi không thử liều chết LD₅₀.

2. Thử độ an toàn trên người tình nguyện

Trên 150 người tình nguyện khoẻ mạnh, không có tiền sử dị ứng qua test lấy da và test kích thích

Triệu chứng lâm sàng sau test lấy da

Bảng 2. Diễn biến lâm sàng sau test lấy da

Triệu chứng Thời gian	Mệt	Nhức đầu	Chóng mặt	Buồn nôn	Choáng
Ngay sau lấy da	5/150	0/150	0/150	0/150	0/150
Sau 30 phút	0/150	0/150	0/150	0/150	0/150
Sau 3 ngày	0/150	0/150	0/150	0/150	0/150

Ngay sau khi tiến hành test lấy da có 5/150 trường hợp cảm thấy hơi mệt, các triệu chứng cũng hết ngay sau 5 phút, trong 30 phút theo dõi tại khoa và cho bệnh nhân về nhà tự theo dõi đánh giá theo mẫu đều không có diễn biến triệu chứng

Triệu chứng lâm sàng sau test kích thích

Bảng 3. Diễn biến lâm sàng sau test kích thích

Triệu chứng thời gian	Mệt	Nhức đầu	Chóng mặt	Buồn nôn	Choáng
Ngay sau kích thích	7/150	0/150	0/150	0/150	0/150
Sau 30 phút	0/150	0/150	0/150	0/150	0/150
Sau 3 ngày	0/150	0/150	0/150	0/150	0/150

Sử dụng test kích thích trên 150 người tình nguyện, thấy có 7 trường hợp có cảm giác hơi mệt, hỏi kỹ thì thấy chủ yếu là do cảm giác hơi căng thẳng, sau đó thì thấy hết mệt ngay, trong 30 phút theo dõi và sau 3 ngày trở lại tất cả các trường hợp tình nguyện đều trả lời là không có các biểu hiện cần lưu tâm như đề nghị

KẾT LUẬN

Tiến hành đánh giá độ an toàn của dị nguyên d.pt trên chuột trước khi thử trên người tình nguyện thấy dị nguyên thực sự an toàn, không độc.

Trên 150 người tình nguyện khoẻ mạnh, không có tiền sử dị ứng. tiến hành test lấy da và test kích thích với dị nguyên d.pt.

Ngay sau tiến hành test lấy da có 5 trường hợp hơi mệt, sau test kích thích có 7 trường hợp thấy hơi mệt, chủ yếu là do tâm lý căng thẳng, các triệu chứng sau đó hết ngay. Sau 30 phút theo dõi tại khoa và theo dõi 3 ngày thấy 150 người đều không bị các triệu chứng: mệt, nhức đầu, chóng mặt, buồn nôn, choáng.

Thử nghiệm này được tiến hành với từng lô dị nguyên D.pt trước khi đưa vào sử dụng trên bệnh nhân.

Điều đó chứng tỏ dị nguyên D.pt chúng tôi sử dụng là an toàn và có hiệu lực.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Đỗ A.Đ. (1986), *Dị ứng học đại cương*, Người dịch: TSKH. Nguyễn Năng An, TS. Trương Đình Kiệt, NXB Mir, Matxcova, tr. 74-85.
- Nguyễn Năng An và CS. (2005), *Bài giảng dị ứng miễn dịch lâm sàng*, Nxb Y học.
- Dược điển Việt Nam III (2002), NXB Y học, Hà Nội.
- Vũ Minh Thục, Lương Xuân Hiến, Võ Thanh Quang, Phạm Văn Thúc và CS (2010), *Mạt bụi nhà Dermatophagoides pteronyssinus, lý luận và thực hành*, Nhà xuất bản y học.
- Phạm Văn Thúc, Vũ Minh Thục, Nguyễn Trọng Tài, Huỳnh Quang Thuận, Nguyễn Văn Yên, Vũ Thị Tường Vân, Đoàn Mai Phương (2011), *Miễn dịch đặc hiệu bằng dị nguyên*, tập 1, Nxb Y học.
- King HC. Skin endpoint titration: still the standard? *Otolaryngol Clin North Am* 1992
- Nelson HS. Diagnostic procedures in allergy. I. Allergy skin testing. *Ann Allergy* 1983
- Lawlor GJ Jr, Fischer TJ, Adelman DC. *Manual of Clinical Allergy*. 1995