

غیرفعال‌سازی پاتوژن‌ها در داروهای بیولوژیکی مشتق از خون: مقاله مروری

چکیده

دریافت: ۱۳۹۵/۱۰/۰۴ ویرایش: ۱۳۹۶/۰۴/۱۹ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۴/۳۰ آنلاین: ۱۳۹۶/۰۴/۳۱

مهمترین منبع حیاتی جهت تهیه انواع داروهای مهم بیولوژیکی، خون انسان می‌باشد. اینگونه داروها نقش اساسی در پیشگیری و درمان بسیاری از بیماری‌های خطرناک را دارا می‌باشند. اما با توجه به این‌که سرچشمه اینگونه داروها خون می‌باشد، همواره خطر آلودگی توسط ویروس‌های منتقله از راه خون وجود دارد. در سال‌های اخیر همواره احتمال انتقال هپاتیت B، C و ایدز از طریق انتقال خون یک هشدار جدی بوده است و در حال حاضر این خطرات در خیلی از کشورهای توسعه یافته به حداقل رسیده است، اگرچه هنوز برای کشورهای در حال توسعه می‌تواند یک چالش باشد. با وجود فرآیند دقیق انتخاب اهدا کننده و انجام آزمایشات لازم بر روی خون و انجام Polymerase chain reaction (PCR) بر روی پلاسما پولد شده که رشته فعالیت‌های عمده در جهت ایمن‌سازی فرآورده‌های دارویی بیولوژیکی برگرفته از پلاسما می‌باشد، باید اقدامات در جهت غیرفعال‌سازی و یا حذف ویروس‌هایی مثل Hepatitis B Virus (HBV)، Hepatitis C Virus (HCV) و HIV صورت پذیرد. این چنین فعالیت‌های ایمن‌سازی شامل روش‌های مختلف ویروس‌زدایی اعتبارسنجی شده مانند روش pH اسیدی، روش حلال/شوینده، روش‌های حرارتی و پاستوریزاسیون، بتا-پروپیولاکتون/UV و همچنین روش حذف ویروسی با کمک نانوفیلتراسیون می‌باشد. امروزه با توجه به انجام همزمان غربالگری و انجام آزمایشات مختلف بر روی خون اهدایی و اعمال روش‌های ویروس‌زدایی مناسب، سطح مناسبی از ایمنی در محصولات دارویی بیولوژیکی برگرفته از پلاسما حاصل گشته است. اما همواره با توجه به احتمال پیدایش پاتوژن‌های جدید مطالعه در این زمینه ادامه دارد.

کلمات کلیدی: مروری، تزریق فرآورده‌های خونی، درمان بیولوژیکی، غیرفعال‌سازی ویروسی.

شهناز نظری^۱مجید شهابی^۲کامران موسوی حسینی*^۲

۱- گروه مهندسی محیط زیست، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران مرکزی، تهران، ایران.
۲- گروه بیوتکنولوژی، مرکز تحقیقات انتقال خون، موسسه عالی آموزشی و پژوهشی انتقال خون، جنب برج میلاد، تهران، ایران.

* نویسنده مسئول: تهران، گروه بیوتکنولوژی، مرکز تحقیقات انتقال خون، موسسه عالی آموزشی و پژوهشی انتقال خون.

تلفن: ۰۲۱-۸۲۰۵۲۱۶۰

E-mail: mkmousavi@yahoo.com

صرف‌نظر از هزینه آن، تولید اینگونه داروها مدنظر قرار گرفته است و مطالعات زیادی در زمینه تهیه داروهای برگرفته از پلاسما به‌انجام رسیده است.^{۵-۸} داروهای بیولوژیک مشتق از پلاسما انسانی شامل آلبومین، ایمونوگلوبولین و فاکتور انعقادی VIII و پروترومبین کمپلکس در سازمان انتقال خون ایران تولید می‌گشته است و در حال حاضر ارتقاء کیفیت و افزایش سطح تولید را در دست بررسی دارند. از نکات مهم تولید اینگونه داروها یکی حفظ خواص بیولوژیک دارو می‌باشد که افزون بر خلوص مناسب، خواص بیولوژیک پروتیین

امروزه داروهای بیولوژیکی برگرفته از خون نقش حیاتی در پیشگیری و درمان بسیاری از بیماری‌ها ایفا می‌کنند.^{۱-۴} تولید اینگونه داروها به‌علت فنآوری پیشرفته آن به‌طور عمده در کشورهای توسعه یافته آن هم فقط در کشورهای معدودی صورت می‌گیرد. همچنین به‌علت گران‌قیمت بودن این داروها، مصرف آن‌ها به‌طور عمده در کشورهای با درآمد سرانه بالا انجام می‌پذیرد. اگرچه در کشورهای در حال توسعه تولید اینگونه داروها مشاهده نگردیده است ولیکن در ایران به‌علت مسائل اخلاقی و کوشش بر درمان تمامی بیماران

باشد.^{۲۹-۳۶} مراحل خالص سازی داروهای مشتق از خون مانند مراحل ترسیب و کروماتوگرافی می تواند تا حدی باعث حذف پاتوژن ها گردد، ولیکن لازم است که روش های ویروس زدایی موثر نیز در خط تولید اعمال گردد.^{۳۰}

تولید داروهای مشتق شده از پلاسما در ایران شامل فاکتورهای انعقادی، ایمونوگلوبولین و آلبومین می باشد و اعمال روش های ویروس زدایی در پالایش پلاسما به منظور بالا بردن سطح ایمنی اینگونه محصولات می باشد. در دنیا همواره احتمال خطر آلودگی به HBV، HCV و HIV در صورت استفاده از فرآورده های خونی وجود دارد، اگرچه این احتمال امروزه به حداقل رسیده است. جدول ۱ مشخصات بعضی ویروس های منتقله از راه انتقال خون را نشان می دهد.

به منظور ایمنی هر چه بیشتر فرآورده های پلاسمایی باید غیر فعال سازی ویروسی و همچنین حذف ویروسی صورت گیرد. میزان ویروس بستگی به تعداد افراد اهدا کننده آلوده که پلاسمای آن ها پولد شده است دارد. تخمین شیوع ویروسی HAV، HBV، HCV و Parvovirus B19 در جوامع اروپایی و آمریکایی پیش از تست غربالگری در جدول ۲ آمده است.

در این جدول برای نمونه پیش از تست غربالگری، شیوع آنتی بادی HCV حدود ۱ تا ۲٪ می باشد. برای پاروویروس B19 این شیوع حدود یک در ۷۰۰۰ تا یک در ده هزار می باشد. بنابراین هر پلاسمای پولد شده با بیش از ده هزار واحد اهدا، انتظار است دارای آلودگی ویروسی HCV و یا پاروویروس B19 باشد.

دوره زمانی پنجره (Window period) باعث می شود که با وجود اعمال روش های ایمن سازی گفته شده مانند غربالگری اهداکنندگان، هنوز اعمال روش های مختلف ویروس زدایی بر روی خط تولید فرآورده های دارویی برگرفته از پلاسما دارای اهمیت باشد. جدول ۳ دوره پنجره تخمینی برای ویروس های HBV، HCV، HIV را نشان می دهد. در حقیقت دوره پنجره، دوره ای است که در آن تیتروسی بالا می رود پیش از این که آنتی بادی خود را در چرخه خون نشان دهد. با معرفی فناوری (NAT) Nucleic acid testing، امکان شناسایی بهتر نوکلئیک اسید فراهم گردیده است، چون نوکلئیک اسید به خود ویروس مربوط می گردد تا به جواب میزان به عفونت. از این رو NAT دوره پنجره را به حداقل می رساند. انتقاد اصلی که به غربالگری

نیز باید حفظ گردد.^{۱۱-۹} دیگر با توجه به این که این داروها از خون و به دنبال آن از پلاسما تهیه می گردند^{۱۲}، همواره خطر آلودگی ویروسی نیز وجود دارد. از این رو به روش مختلف باید اطمینان حاصل شود که فرآورده دارویی نهایی دارای حداقل خطر آلودگی ویروسی می باشد.^{۱۳} بنابراین افزون بر غربالگری باید محصولات دارویی برگرفته از پلاسما مورد ویروس زدایی نیز قرار گیرند.^{۱۷-۱۴} مطالعات مختلفی در زمینه روش های ویروس زدایی حلال/شوینده، پاستوریزاسیون و افزودن متیلن بلو بر روی داروهای بیولوژیکی انجام دادیم که گویای حفظ خواص بیولوژیکی داروها داشت.^{۱۸،۱۹} ایمنی داروهای بیولوژیک برگرفته از پلاسما: خون انسان منبع حیاتی بسیار مهمی جهت تهیه داروهای بیولوژیک به شمار می رود که این داروهای مشتق از خون یا پلاسمای انسانی می تواند جهت پیشگیری و درمان بیماری هایی که زندگی را تهدید می کنند به کار رود.^{۲۰-۲۳}

به منظور ایمن سازی داروهای مشتق از خون سه رشته فعالیت می تواند صورت گیرد. این سه رشته فعالیت شامل: انتخاب اهدا کننده، انجام آزمایشات بر روی خون و پلاسمای پولد شده و اقدامات ویروس زدایی شامل غیر فعال سازی و حذف ویروسی در خط تولید داروهای بیولوژیکی برگرفته از خون می باشد. هر کدام از این مراحل باید بر اساس راهنماهای (GMP) Good manufacturing practice صورت پذیرد.^{۲۴}

اگرچه امروزه با اعمال روش های مختلف ویروس زدایی تا میزان بسیار بالایی ایمنی در فرآورده های دارویی بیولوژیک برگرفته از خون می تواند ایجاد گردد، ولیکن بیشترین ایمنی زمانی حاصل می شود که هر سه اقدام فوق به صورت دقیق صورت پذیرد.

با وجود فرآیند دقیق انتخاب اهدا کننده و انجام آزمایشات لازم بر روی خون و پلاسمای پولد شده، هنوز احتمال انتقال پاتوژن از طریق انتقال خون به طور کامل حذف نمی شود و لازم است که روش های ویروس زدایی نیز در جهت تکمیل دو اقدام صورت گرفته، انجام شود.^{۲۵}

در سال های اخیر همواره احتمال انتقال هپاتیت B، C و ایدز از طریق انتقال خون یک هشدار جدی بوده است و در حال حاضر این خطرات در خیلی از کشورهای توسعه یافته به حداقل رسیده است، ولیکن هنوز برای کشورهای در حال توسعه می تواند یک چالش

جدول ۱: مشخصات بعضی ویروس‌های منتقله از راه انتقال خون

اندازه (nm)	پوشش	ژنوم	ویروس
۲۸-۳۰	no	ssRNA	ویروس هپاتیت A
۴۰-۴۵	Yes	dsDNA	ویروس هپاتیت B
۴۰-۴۵	Yes	ssRNA	ویروس هپاتیت C
۱۳۰-۸۰	Yes	ssRNA	HIV
۱۸-۲۶	no	ssDNA	Parvovirus B19

جدول ۲: شیوع بعضی ویروس‌های منتقله از راه انتقال خون در اهداکنندگان پیش از غربالگری

تیترا ویروسی (GE/ml)	شیوع	ویروس
۱۰ ^۳ -۱۰ ^۵	۱/۵۰۰,۰۰۰	ویروس هپاتیت A
۱۰ ^۳ -۱۰ ^۸	۱/۱۰,۰۰۰	ویروس هپاتیت B
۱۰ ^۴ -۱۰ ^۶	۱/۵۰-۱/۱۰۰	ویروس هپاتیت C
۱۰ ^۳ -۱۰ ^{۱۲}	۱/۱۰۰۰-۱/۷۰۰۰	Parvovirus B19

جدول ۳: دوره پنجره تخمینی برای ویروس‌های HIV, HCV, HBV

ویروس	دوره پنجره بدون فنآوری NAT	دوره پنجره با فنآوری NAT
HBV	۵۹	۴۹
HCV	۸۲	۹
HIV	۲۲	۱۰

عوامل عفونی دیگر: باکتری‌ها و پارازیت‌ها مانند مالاریا و تریپانوزوم‌ها زمانی که فرآورده‌های پلاسمایی با فیلتر ۰/۲ میکرون مورد فیلتراسیون قرار می‌گیرند، دیگر دارای خطر آلودگی نمی‌باشند. در مورد Creutzfeldt-Jakob disease (CJD) باید خیلی دقت به عمل آید زیرا تجربه بر روی مدل حیوانی نشان داده است عفونت در خون قابل مشاهده است، اگرچه این آلودگی‌ها در سطح پایینی مشاهده شده است.

اعتبارسنجی روش‌های غیرفعال‌سازی و حذف ویروسی: ویروس‌های آلوده کننده خون و در پی آن آلوده کننده فرآورده‌های دارویی مشتق از پلاسما می‌توانند دارای ژنوم DNA و یا RNA باشند،

می‌تواند وارد باشد این است که در تمام روش‌های غربالگری شناسایی عفونت ویروسی در پایین‌تر از یک سطح مشخص امکان‌پذیر نمی‌باشد. همچنین غربالگری محدود به ویروس‌هایی می‌شود که تست‌های مربوطه برای آن‌ها گذاشته می‌شود، پس غربالگری همواره فقط این اطمینان را می‌تواند حاصل نماید که بار ویروسی در میزان حداقل نگه داشته می‌شود و نه اینکه صفر می‌شود. بنابراین نمی‌تواند اطمینان صد در صد در مورد ایمنی فرآورده‌های خونی را تضمین نماید. با توجه به این اوصاف، حذف یا غیرفعال‌سازی ویروسی از بحرانی‌ترین مراحل کاری در تولید فرآورده‌های دارویی مشتق از پلاسما می‌باشد.^{۳۱-۳۳}

همچنین در مطالعه اعتبارسنجی اگر روشی مورد بررسی قرار گرفت که فقط بر روی ویروس‌های دارای پوشش لیپیدی موثر است، باید روش دیگری که نیز بر روی ویروس‌های بدون پوشش موثر است مورد ارزیابی قرار گیرد تا طیفی هر چه کاملتر از ویروس‌ها را پوشش دهد.^{۴۰}

روش‌های کاهش بار ویروسی: همواره برخی مراحل پالایش پلاسما به‌منظور تولید فرآورده‌های دارویی مشتق از پلاسما کاهش بار ویروسی را به‌دنبال خواهد داشت. ولیکن چون این کاهش تیترا ویروسی کمتر از $\log 4$ می‌باشد، این مراحل، ویروس‌زدایی را به‌صورت ضعیف اعمال می‌نمایند و از آن‌ها نمی‌توان به‌عنوان روش‌های ویروس‌زدایی قوی یاد کرد. مرحله‌ای که در پالایش پلاسما می‌تواند موجب کاهش بار ویروسی به‌صورت ضعیف شود شامل: مراحل ترسیب و سانتریفوژ کردن، پالایش با اتانول، استفاده از پلی‌اتیلن گلیکول، کاپریلیک اسید و آمونیوم سولفات (به‌منظور ترسیب پروتئین مورد نظر)، همچنین کروماتوگرافی ایمونوفینیتی و تبادل یونی و فیلتراسیون‌های میکرونی می‌باشد. تمامی این مراحل در پالایش پلاسما می‌تواند موجب کاهش بار ویروسی در حد ضعیف گردد.

بنابراین همواره باید روش‌های ویروس‌زدایی موثر و قوی که موجب کاهش تیترا ویروسی بیش از $\log 4$ می‌شود، به‌کار برده شود.^{۴۱-۴۳} این روش‌های موثر شامل روش حلال/شوینده^{۴۴-۴۵} (که در آن محلول پروتئینی در حضور حلال آلی تری-ان-بوتیل فسفات و شوینده تریتون X 100 یا توین ۸۰ یا سدیم کوئیت، اینکوبه می‌شود)، پاستوریزاسیون^{۴۶} (که محلول به‌مدت ۱۰ ساعت 60°C حرارت داده می‌شود)، حرارت خشک^{۴۷-۴۸}، حرارت مرطوب^{۴۷}، pH اسیدی^{۴۸}، بتاپروپیولاکتون/پرتو ماوراء بنفش^{۴۹-۵۰} و نانوفیلتراسیون^{۵۱-۵۲} می‌باشد.

جدول ۵ فراوانی موارد استفاده از فناوری‌های متفاوت در ویروس‌زدایی فرآورده‌های اصلی دارویی برگرفته از پلاسما شامل: آلبومین، ایمونوگلوبولین، فاکتور VIII انعقادی، فاکتور IX انعقادی و پروترومبین کمپلکس را نشان می‌دهد. در روش‌های ویروس‌زدایی حرارتی، هدف دنا توره کردن پروتئین ویروس می‌باشد و کمتر هدف تاثیر بر روی نوکلئیک اسید ویروس می‌باشد. در روش حلال/شوینده، تخریب غشاء لیپیدی ویروس مورد نظر است. درحالی‌که توسط پرتو پروپیولاکتون، نوکلئیک اسید ویروس تجزیه می‌گردد. از این رو در

که می‌تواند دارای پوشش لیپیدی و یا بدون پوشش باشند. اندازه ویروس‌ها می‌تواند از کوچکترین اندازه مانند پاروویروس تا متوسط مانند HBV باشد. از این روش اعمال شده باید نشان از آن باشد که قادر است حذف و یا غیرفعال‌سازی ویروسی را بر روی طیف وسیعی از ویروس‌ها اعمال نماید و مطالعات اعتبارسنجی بهتر است حداقل بر روی سه ویروس صورت پذیرد تا نشان دهد قابلیت این را دارد که بر روی انواع ویروس‌ها تاثیرگذار باشد. جدول ۴ ویروس‌های محتمل در خون را به همراه ویروس مدل که جهت مطالعه اعتبارسنجی می‌تواند به‌کار رود را نشان می‌دهد. البته ویروس‌های مدل می‌تواند فقط منحصر به ویروس‌های آورده شده در جدول نباشد.

لازمه مطالعه اعتبارسنجی، تهیه تیترا بالا از ویروس‌های مدل می‌باشد. برای مثال برای ویروس هپاتیت C، ویروس‌های تب زرد، Bovine viral و Semliki Forest virus (SFV)، Sindbis virus (SIN) diarrhea virus (BVDV) را می‌توان نام برد که طیف این ویروس‌ها دارای غشاء لیپیدی و ژنوم RNA و اندازه 40 تا 50 nm می‌باشد. در جدول ۴ همچنین ویروس‌های مدل برای هپاتیت A، B، HIV و پاروویروس B19 آمده است.

در مطالعه اعتبارسنجی ویروس‌زدایی باید مدل بسیار دقیق باشد و از لحاظ کاری، شرایط فیزیکی مانند درجه حرارت، هم زدن، ارتفاع ستون کروماتوگرافی، سرعت جریان، ترسیب و شرایط فیلتراسیون درست مشابه خط تولید باشد. همچنین شرایط شیمیایی مانند pH، قدرت یونی، رطوبت و غلظت مواد غیر فعال‌کننده باید مشابه شرایط تولید فرآورده‌ها باشد.

پس از فراهم نمودن مدل برای اعتبارسنجی حذف یا غیرفعال‌سازی ویروسی، باید ویروس مدل با تیترا مناسب به فرآورده دارویی مشتق از پلاسما اضافه گردد و می‌تواند پس از اعمال روش ویروس‌زدایی، قدرت اثر روش‌های مختلف فیزیکی: مانند پاستوریزاسیون، حرارت خشک، حرارت مرطوب و روش‌های شیمیایی: مانند pH اسیدی، روش حلال/شوینده و غیره می‌تواند مورد بررسی قرار گیرد.^{۳۹-۴۴} پس از اعمال ویروس‌زدایی بار دیگر تیترا ویروسی اندازه‌گیری می‌شود. روشی موثر است که حداقل بتواند $\log 4$ کاهش ویروسی را موجب گردد و روش‌هایی که موجب $\log 1$ کاهش ویروسی می‌گردند به‌عنوان روش موثر شناخته نمی‌شوند.

جدول ۴: ویروس‌های محتمل در خون و ویروس‌های مدل مربوطه

ویروس	مثال‌هایی از ویروس مدل
ویروس هپاتیت A	Hepatitis A virus, Encephalomyocarditis virus
ویروس هپاتیت B	Duck hepatitis B virus, Pseudorabies virus
ویروس هپاتیت C	Bovine viral diarrhea virus, Sindbis virus, Semliki forest virus, Yellow fever virus
HIV	Human immunodeficiency virus
پاروویروس B19	Canine parvovirus, Porcine parvovirus

جدول ۵: فراوانی استفاده از برخی روش‌های ویروس‌زدایی

داروی بیولوژیک	حلال/شوینده	پاستوریزاسیون	حرارت مرطوب	حرارت خشک	pH ۴	بتا-پروپیولاکتون	نانو-فیلتراسون
آلبومین	زیاد	زیاد					
ایمونوگلوبولین	متوسط	متوسط			زیاد	کم	کم
فاکتور VIII	زیاد	کم	کم	متوسط			کم
فاکتور IX	زیاد	کم	کم	کم		متوسط	
پروترومبین کمپلکس	کم		کم	کم		کم	کم

از ضریب ایمنی نسبی برخوردار باشد. از این رو نمی‌توان به این اقدامات بسنده کرد و باید از روش‌های مختلف ویروس‌زدایی در خط تولید اینگونه داروها نیز بهره جست. انتخاب روش‌های مختلف ویروس‌زدایی باید مبتنی بر تکمیل نمودن یکدیگر باشد، یعنی اگر از روشی استفاده گردید که مناسب ویروس‌زدایی جهت ویروس‌های با پوشش لیپیدی می‌باشد (مانند روش حلال/ شوینده)^{۶۷} و^{۶۸} از روش دیگری نیز استفاده شود (روش‌های حرارتی)^{۶۹} یا نانو فیلتراسیون^{۷۰} تا^{۷۱} که موثر بر ویروس‌های بدون پوشش باشد، تا ایمنی دارو از لحاظ آلودگی تا میزان بالایی افزایش یابد.^{۷۲}

ویروس‌زدایی فرآورده‌های دارویی مشتق از پلاسما باید از روش‌هایی به صورت توأم استفاده نمود که مکمل یکدیگر باشند و اطمینان حاصل شود که کمترین خطر تشکیل نئوآنتی‌ژن‌های پروتئین‌های پلاسما وجود دارد که این می‌تواند موجب تشکیل مهارکننده‌ها در بیماران دریافت کننده فرآورده دارویی شود. با توجه به اجرای پروتکل‌های دقیق انتخاب اهدا کننده خون و آزمایشات مختلف بر روی خون‌های اهدایی جهت شناسایی ویروس‌های معمول منتقله از راه انتقال خون و انجام PCR بر روی پلاسمای پولد شده، می‌توان انتظار داشت که ماده اولیه تولید داروهای بیولوژیکی مشتق از پلاسما

References

- Benjamin RJ, McLaughlin LS. Plasma components: properties, differences, and uses. *Transfusion* 2012;52 Suppl 1:9s-19s.
- Schneider T. Therapeutic plasmas. *Transfus Clin Biol* 2012;19(4-5):148-9.
- Burnouf T. Plasma fractionation in the world: current status. *Transfus Clin Biol* 2007;14(1):41-50.
- Mousavi Hosseini K, Nikougoftar Zarif M. Preparation of plasminogen by affinity chromatography. *Iran J Blood Cancer* 2014;6(4):163-7.
- Mousavi Hosseini K, Nasiri S. Preparation of factor VII concentrate using CNBr-activated Sepharose 4B immunoaffinity chromatography. *Med J Islam Repub Iran* 2015;29:170.

6. Mousavi Hosseini K, Pourmokhtar M, Habibi Roudkenar M, Shahabi M. Human plasma derived drugs separation by fractionation of plasma with polyethylene glycol. *Iran J Biotechnol* 2014;12(3):82-5.
7. Mousavi Hosseini K, Pourmokhtar M, Jalili MA, Nasiri S. Immunoglobulin A preparation from human pooled plasma using plasma fractionation and ion exchange chromatography. *Iran J Blood Cancer* 2014;6(2):75-9.
8. Yari F, Mousavi Hosseini K. Simultaneous purification and polymerization method for bovine serum albumin preparation. *Ital J Biochem* 2007;56(2):163-5.
9. Clement S. Techniques of preparation and indications of labile blood products. *Transfus Clin Biol* 2011;18(2):250-61.
10. Nasiri S, Mousavi Hosseini K. Effects of centrifugation speed on platelet aggregation activity. *Koomesh* 2014;15(2):250-4.
11. Nasiri S, Mousavi Hosseini K. Infusible platelet Membrane versus conventional platelet Concentrate: Benefits and disadvantage. *Iran J Blood Cancer* 2014;6(2):87-93.
12. Mahmoodian Shoostari M, Mousavi Hosseini K. Evaluation of the plasma quality after filtration. *DARU* 2010;18(2):114-7.
13. Nesterova NV, Kurkina OV, Samoilenko VA, Skrynyk MM. Physico-chemical and biological properties of solvent/detergent treated immunoglobulin G preparations. *Mikrobiol Z* 2009;71(6):35-42.
14. Farcet MR, Lackner C, Antoine G, Rabel PO, Wieser A, Flicker A, et al. Hepatitis E virus and the safety of plasma products: investigations into the reduction capacity of manufacturing processes. *Transfusion* 2016;56(2):383-91.
15. Solheim BG, Seghatchian J. Update on pathogen reduction technology for therapeutic plasma: an overview. *Transfus Apher Sci* 2006;35(1):83-90.
16. Lebing W, Remington KM, Schreiner C, Paul HI. Properties of a new intravenous immunoglobulin (IGIV-C, 10%) produced by virus inactivation with caprylate and column chromatography. *Vox Sang* 2003;84(3):193-201.
17. Lozano M, Cid J. Pathogen inactivation: coming of age. *Curr Opin Hematol* 2013;20(6):540-5.
18. Elikaei A, Sharifi Z, Hosseini SM, Latifi H, Musavi Hosseini MK. Inactivation of model viruses suspended in fresh frozen plasma using novel methylene blue based device. *Iran J Microbiol* 2014;6(1):41-5.
19. Mousavi Hosseini K, Dinarvand R, Pourmokhtar M, Rezvan H, Jalili MA. Pasteurization of IgM-enriched immunoglobulin. *DARU* 2004;12(1):40-3.
20. Mousavi Hosseini k, Pourmokhtar M, Dinarvand R, Rezvan H, Jalili MA. Preparation of enriched immunoglobulin M and immunoglobulin A from human plasma. *Med J Islam Repub Iran* 2004;17(4):315-8.
21. Mousavi Hosseini K, Nasiri S, Heidari M. Separation of albumin from the human plasma by ethanol and low temperature. *J Zanjan Univ Med Sci Health Serv* 2013;21(85):65-75.
22. Mousavi Hosseini K, Heidari M, Yari F. The preparation of albumin as a biological drug from human plasma by fiber filtration. *Tehran Univ Med J* 2011;69(5):283-8.
23. Mousavi Hosseini K, Jalili MA. Synthesis of vitamin E novel analogues as anti-cancer compounds. *Jundishapur J Nat Pharm Prod* 2016;11(1):e32350.
24. Mousavi Hosseini K, Sharifi Z. Quality assurance and good manufacturing practice in respect of plasma fractionation. *Iran J Blood Cancer* 2011;3(3):139-46.
25. Rezvan H, Motallebi Z, Jalili MA, Mousavi Hosseini K, Pourfathollah AA. Safety of blood and plasma derivatives: pathogen reducing technologies. *Med J Islam Repub Iran* 2006;20(2):86-92.
26. Roberts PL. Virus elimination during the recycling of chromatographic columns used during the manufacture of coagulation factors. *Biologicals* 2014;42(4):184-90.
27. Antić A, Stanojković Z, Macukanović-Golubović L, Jelić M. Evaluation of coagulation factors in fresh frozen plasma treated with riboflavin and ultraviolet light. *Vojnosanit Pregl* 2012;69(1):22-6.
28. Morgenthaler JJ. New developments in plasma fractionation and virus inactivation. *Vox Sang* 2000;78 Suppl 2:217-21.
29. Kashef N, Behzadian-Nejad Q, Najar-Peerayeh S, Mousavi Hosseini K, Moazeni M, Rezvan H, et al. Preliminary investigation on the isolation of alginate produced by mucoid pseudomonas aeruginosa. *Ann Microbiol* 2005;55(4):279-82.
30. Salunkhe V, van der Meer PF, de Korte D, Seghatchian J, Gutiérrez L. Development of blood transfusion product pathogen reduction treatments: a review of methods, current applications and demands. *Transfus Apher Sci* 2015;52(1):19-34.
31. Yunoki M, Tanaka H, Takahashi K, Urayama T, Hattori S, Ideno S, et al. Hepatitis E virus derived from different sources exhibits different behaviour in virus inactivation and/or removal studies with plasma derivatives. *Biologicals* 2016;pii:S1045-56.
32. Guelcher CJ. Evolution of the treatments for hemophilia. *J Infus Nurs* 2016;39(4):218-24.
33. Devine DV, Schubert P. Pathogen inactivation technologies: the advent of pathogen-reduced blood components to reduce blood safety risk. *Hematol Oncol Clin North Am* 2016;30(3):609-17.
34. Jackson RA, Mousavi Hosseini K. Phenol-phenoxyl radical equilibria by electron spin resonance: are radicals derived from tocopherol and analogues exceptionally stabilized? *J Chem Soc Chem Commun* 1992;13:967-8.
35. Rezvan H, Nasiri S, Mousavi Hosseini K. Inactivation of polio-virus type-1 and HSV-1 in human coagulation factor VII concentrate by pasteurization. *Arch Iran Med* 2001;4(1):10-3.
36. Solano S, Segura A, Leon G, Gutierrez JM, Burmouf T. Low pH formulation of whole IgG antivenom: impact on quality, safety, neutralizing potency and viral inactivation. *Biologicals* 2012;40(2):129-33.
37. Mueller M, Wan C, Hoi KM, Kim do Y, Gan HT, Bardor M, Gagnon P. Immunoglobulins M survive low-pH conditions used for virus inactivation and for elution from bioaffinity columns. *J Pharm Sci* 2013;102(3):1125-32.
38. Nasiri S, Rezvan H, Mousavi Hosseini K, Roostaei MH. Preparation of highly purified S/D coagulation F VII and F IX concentrate from PPSB. *Med J Islam Repub Iran* 2001;15(2):103-8.
39. Rezvan H, Nasiri S, Mousavi Hosseini K, Golabi M. A study on the application and efficacy of solvent-detergent treatment in the process of purifying F VII from prothrombin complex. *Med J Islam Repub Iran* 2002;16(3):179-82.
40. Pourmokhtar M, Dinarvand R, Mousavi Hosseini K, Rezvan H, Jalili MA. Solvent-detergent treatment of IgM-enriched immunoglobulin. *DARU* 2003;11(2):47-51.
41. Wieser A, Berting A, Medek C, Poelsler G, Kreil TR; Global Pathogen Safety, Baxalta (now a part of Shire). Virus filtration and flow variation: an approach to evaluate any potential impact on virus retention. *PDA J Pharm Sci Technol* 2016;70(4):325-31.
42. Klamroth R, Gröner A, Simon TL. Pathogen inactivation and removal methods for plasma-derived clotting factor concentrates. *Transfusion* 2014;54(5):1406-17.
43. Groner A. Pathogen safety of plasma derived products – Haemate P/Humate-P. *Haemophilia* 2008;14 Suppl 5:54-71.
44. Leydold SM, Farcet MR, Kindermann J, Modrof J, Pölsler G, Berting A, et al. Chikungunya virus and the safety of plasma products. *Transfusion* 2012;52(10):2122-30.
45. Jilma-Stohlawetz P, Kursten FW, Horvath M, Leitner G, List J, Marcek J, et al. Recovery, safety, and tolerability of a solvent/detergent-treated and prion-safeguarded transfusion plasma in a randomized, crossover, clinical trial in healthy volunteers. *Transfusion* 2013;53(9):1906-17.
46. Neisser-Syae A, Trawnicek L, Heger A, Mehta T, Triulzi D. Five-day stability of thawed plasma: solvent/detergent-treated plasma

- comparable with fresh-frozen plasma and plasma frozen within 24 hours. *Transfusion* 2016;56(2):404-10.
47. Theusinger OM, Baulig W, Seifert B, Emmert MY, Spahn DR, Asmis LM. Relative concentrations of haemostatic factors and cytokines in solvent/detergent-treated and fresh frozen plasma. *Br J Anaesth* 2011;106(4):505-11.
 48. Hsieh YT, Mullin L, Greenhalgh P, Cunningham M, Goodrich E, Shea J, et al. Single-use technology for solvent/detergent virus inactivation of industrial plasma products. *Transfusion* 2016;56(6):1384-93.
 49. Cushing MM, Asmis L, Calabia C, Rand JH, Haas T. Efficacy of solvent/detergent plasma after storage at 2-8°C for 5 days in comparison to other plasma products to improve factor V levels in factor V deficient plasma. *Transfus Apher Sci* 2016; [Epub ahead of print].
 50. Segura A, Leon G, Su CY, Gutierrez JM, Burnouf T. Assessment of the impact of solvent/detergent treatment on the quality and potency of whole IgG equine antivenom. *Biologicals* 2009;37(5):306-12.
 51. Chou ML, Burnouf T, Chang SP, Hung TC, Lin CC, Richardson CD, et al. TnBP/Triton X-45 treatment of plasma for transfusion efficiency inactivates hepatitis C virus. *PLoS One* 2015;10(2):e0117800.
 52. Chang CE, Eo HG, Lee YS, Chung SK, Shin JS, Lah YK, et al. Human intravenous immunoglobulin preparation and virus inactivation by pasteurization and solvent detergent treatment. *Prep Biochem Biotechnol* 2000;30(3):177-97.
 53. Hewitt J, Greening GE. Effect of heat treatment on hepatitis A virus and norovirus in New Zealand greenshell mussels (*Perna canaliculus*) by quantitative real-time reverse transcription PCR and cell culture. *J Food Prot* 2006;69(9):2217-23.
 54. Mousavi Hosseini K, Rezvan H, Motallebi Z, Chabokpey S, Mirbod V. Study of the heat treated human albumin stabilization by caprylate and acetyltryptophanate. *Iran Biomed J* 2002;6(4):135-140.
 55. Knevelman A, de Wit HJ, Potstra P, vd Does JA. Development and small-scale production of a severely heated factor VIII concentrate. *Vox Sang* 1994;66(2):89-95.
 56. Winkelman L, Feldman PA, Evans DR. Severe heat treatment of lyophilized coagulation factors. *Curr Stud Hematol Blood Transfus* 1989;56:55-69.
 57. Kim IS, Choi YW, Kang Y, Sung HM, Shin JS. Dry-heat treatment process for enhancing viral safety of an antihemophilic factor VIII concentrate prepared from human plasma. *J Microbiol Biotechnol* 2008;18(5):997-1003.
 58. Barrett PN, Meyer H, Wachtel I, Eibl J, Dorner F. Inactivation of hepatitis A virus in plasma products by vapor heating. *Transfusion* 1997;37(2):215-20.
 59. Vacante D, Connell-Crowley L. Protocol for evaluation of virus inactivation using low pH treatment. *PDA J Pharm Sci Technol* 2014;88(1):90-97.
 60. Logrippo GA. Investigations of the use of beta-propiolactone in virus inactivation. *Ann NY Acad Sci* 1960;83:578-94.
 61. Dichtelmuller H, Rudnick D, Breuer B, Ganshirt KH. Validation of virus inactivation and removal for the manufacturing procedure of two immunoglobulins and a 5% serum protein solution treated with beta-propiolactone. *Biologicals* 1993;21(3):259-68.
 62. She YM, Cheng K, Farnsworth A, Li X, Cyr TD. Surface modification of influenza proteins upon virus inactivation by β -propiolactone. *Proteomics* 2013;13(23-24):3537-47.
 63. Yokoyama T, Murai K, Murozuka T, Wakisaka A, Tanifuji M, Fujii N, et al. Removal of small non-enveloped viruses by nanofiltration. *Vox Sang* 2004;86(4):225-29.
 64. Soluk L, Price H, Sinclair C, Atalla-Mikhail D, Genereux M. Pathogen safety intravenous Rh immunoglobulin liquid and other immunoglobulin products: enhanced nanofiltration and manufacturing process overview. *Am J Ther* 2008;15(5):435-43.
 65. Koenderman AH, ter Hart HG, Prins-de Nijs IM, Bloem J, Stoffers S, Kempers A, et al. Virus safety of plasma products using 20 nm instead of 15 nm filtration as virus removing step. *Biologicals* 2012;40(6):473-81.
 66. Terpstra FG, Parkkinen J, Tölö H, Koenderman AH, Ter Hart HG, von Bonsdorff L, et al. Viral safety of Nanogam, a new 15 nm-filtered liquid immunoglobulin product. *Vox Sang* 2006;90(1):21-32.
 67. Furuya K, Murai K, Yokoyama T, Maeno H, Takeda Y, Murozuka T, et al. Implementation of a 20-nm pore-size filter in the plasma-derived factor VIII manufacturing process. *Vox Sang* 2006;91(2):119-25.
 68. Burnouf T, Goubran HA, Radosevich M, Sayed MA, Gorgy G, El-Ekiaby M. A minipool process for solvent-detergent treatment of cryoprecipitate at blood centres using a disposable bag system. *Vox Sang* 2006;91(1):56-62.
 69. Horowitz B, Bonomo R, Prince Am, Chin SN, Brotman B, Shulman RW. Solvent/detergent-treated plasma: A virus inactivated substitute for fresh frozen plasma. *Blood* 1992;79(3):826-31.
 70. Madani TA, Abuelzein el-TM, Azhar EI, Al-Bar HM. Thermal inactivation of Alkhumra hemorrhagic fever virus. *Arch Virol* 2014;159(10):2687-91.
 71. Caballero S, Diez JM, Belda FJ, Otegui M, Herring S, Roth NJ, et al. Robustness of nanofiltration for increasing the viral safety margin of biological products. *Biologicals* 2014;42(4):79-85.
 72. Cardone F, Simoneau S, Arzel A, Puopolo M, Berardi VA, Abdel-Haq H, et al. Comparison of nanofiltration efficacy in reducing infectivity of centrifuged versus ultracentrifuged 263K scrapie-infected brain homogenates in "spiked" albumin solutions. *Transfusion* 2012;52(5):953-62.

Pathogen inactivation of blood derived biological medicines: *review article*

Shahnaz Nazari M.Sc.¹
Majid Shahabi Ph.D.²
Kamran Mousavi Hosseini
Ph.D.^{2*}

1- Department of Environmental
Engineering, Islamic Azad
University, Central Tehran Branch,
Tehran, Iran.

2- Department of Biotechnology,
Blood Transfusion Research Center,
High Institute for Research and
Education in Transfusion Medicine,
Tehran, Iran.

* Corresponding author: Department of
Biochemistry, Blood Transfusion
Research Center, High Institute for
Research and Education in Transfusion
Medicine, Tehran, Iran.
Tel: +98- 21- 82052160
E-mail: mkmousavi@yahoo.com

Abstract

Received: 24 Dec. 2016 Revised: 10 Jul. 2017 Accepted: 21 Jul. 2017 Available online: 22 Jul. 2017

One of the main sources of a wide range of biological products as starting material is the human blood. These biological human plasma derived medicines play essential role in prevention and treatment of a variety of life threatening diseases. Mention to the starting material of these medicines which is blood or in another word human plasma, possibility of contamination by blood borne viruses cannot be omitted.

In recent years possibility of contamination by blood borne viruses such as hepatitis B virus (HBV), hepatitis C virus (HCV), and human immunodeficiency virus (HIV) is an important concern. Nowadays most of developed countries the risk is minimum, although in developing countries it is still a challenge. Despite measures for human plasma biological derived medicines safety, such as donor selection, testing of donations, and polymerase chain reaction (PCR) testing on pooled plasma, still more actions are needed to inactivate or remove viruses such as HBV, HCV and HIV. During the process of manufacturing of biological human plasma medicines, there is several production steps which may contribute to viral reduction. These steps consist of precipitation by centrifugation, ethanol, polyethylene glycol, octanoic acid, or ammonium sulphate, chromatographic methods such as immunoaffinity chromatography or ion exchange chromatography, adsorption by aluminum hydroxide, and separation by filtration. All these steps are considered to be weakly effective as viral reduction treatment, and more effective viral inactivation methods are needed to be implemented in line of production of human plasma derived biological medicinal products. These safety measures included virus inactivation by different techniques such as acidic pH, solvent/detergent method, pasteurization and heat treatment, beta-propiolactone plus U/V and also virus removal by nanofiltration, which all these virus inactivation or virus removal methods before implementation in line of production of plasma derived biological medicines, should undergo for validation study.

Nowadays by screening and testing of donations and implementation of different measures of virus inactivation or virus removal, a good level of safety of plasma derived biological medicines has been achieved. Due to the possibility of emerging new pathogens investigation in this subject should be continued.

Keywords: biological therapy, blood component transfusion, review, virus inactivation.