مجله دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تیر ۱۳۹۶، دوره ۷۵، شماره ٤، صفحه‌های ۲۵۱ تا ۲۵۸

غیرفعال‌سازی پاتوژن‌ها در داروهای بیولوژیکی مشتق از خون: *مقاله مروری*

شهناز نظری[۱]
مجید شهابی[۲]
کامران 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: ۸۲۰۵۲۱۶۰ -۰۲۱
E-mail: mkmousavi@yahoo.com

دریافت: ۱۳۹۵/۱۰/۰٤ ویرایش: ۱۳۹٦/۰٤/۱۹ پذیرش: ۱۳۹٦/۰٤/۳۰ آنلاین: ۱۳۹٦/۰٤/۳۱

چکیده

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 پلاسمای 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. این‌چنین 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.

امروزه داروهای بیولوژیکی برگرفته از خون نقش حیاتی در پیشگیری و درمان بسیاری از بیماری‌ها ایفا می‌کنند.[۱-٤] 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 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 پلاسمای 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

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-06-15]

نیز باید حفظ گردد.[۹-۱۱] دیگر با توجه به‌این‌که این داروها از خون و به‌دنبال آن از پلاسما تهیه می‌گردند[۱۲]، همواره خطر آلودگی ویروسی نیز وجود دارد. از این‌رو به روش مختلف باید اطمینان حاصل شود که فرآورده دارویی نهایی دارای حداقل خطر آلودگی ویروسی می‌باشد.[۱۳] بنابراین افزون بر غربالگری باید محصولات دارویی برگرفته از پلاسما مورد ویروس‌زدایی نیز قرار گیرند.[۱۴-۱۷] مطالعات مختلفی در زمینه روش‌های ویروس‌زدایی حلال/شوینده، پاستوریزاسیون و افزودن متیلن بلو بر روی داروهای بیولوژیکی انجام دادیم که گویای حفظ خواص بیولوژیکی داروها داشت.[۱۸و۱۹]

ایمنی داروهای بیولوژیک برگرفته از پلاسما: خون انسان منبع حیاتی بسیار مهمی جهت تهیه داروهای بیولوژیک به‌شمار می‌رود که این داروهای مشتق از خون یا پلاسمای انسانی می‌تواند جهت پیشگیری و درمان بیماری‌هایی که زندگی را تهدید می‌کنند به‌کار رود.[۲۰-۲۳]

به‌منظور ایمن‌سازی داروهای مشتق از خون سه رشته فعالیت می‌تواند صورت گیرد. این سه رشته فعالیت شامل: انتخاب اهدا کننده، انجام آزمایشات بر روی خون و پلاسمای پولد شده و اقدامات ویروس‌زدایی شامل غیر فعال‌سازی و حذف ویروسی در خط تولید داروهای بیولوژیکی برگرفته از خون می‌باشد. هر کدام از این مراحل باید بر اساس راهنماهای Good manufacturing practice (GMP) صورت پذیرد.[۲۴]

اگرچه امروزه با اعمال روش‌های مختلف ویروس‌زدایی تا میزان بسیار بالایی ایمنی در فرآورده‌های دارویی بیولوژیک برگرفته از خون می‌تواند ایجاد گردد، ولیکن بیشترین ایمنی زمانی حاصل می‌شود که هر سه اقدام فوق به‌صورت 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 به‌طور کامل حذف نمی‌شود و لازم است که روش‌های ویروس‌زدایی نیز در جهت تکمیل دو اقدام صورت گرفته، انجام شود.[۲۵]

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، ولیکن هنوز برای کشورهای در حال توسعه می‌تواند یک چالش باشد.[۲۶-۲۹] مراحل خالص‌سازی داروهای مشتق از خون مانند مراحل ترسیب و کروماتوگرافی می‌تواند تا حدی باعث حذف پاتوژن‌ها گردد، ولیکن لازم است که روش‌های ویروس‌زدایی موثر نیز در خط تولید اعمال گردد.[۳۰]

تولید داروهای مشتق شده از پلاسما در ایران شامل فاکتورهای انعقادی، ایمونوگلوبولین و آلبومین می‌باشد و اعمال روش‌های ویروس‌زدایی در پالایش پلاسما به منظور بالا بردن سطح ایمنی اینگونه محصولات می‌باشد. در دنیا همواره احتمال خطر آلودگی به HBV، HCV و HIV در صورت استفاده از فرآورده‌های خونی وجود دارد، اگرچه این احتمال امروزه به حداقل رسیده است. جدول ۱ مشخصات بعضی ویروس‌های منتقله از راه انتقال خون را نشان می‌دهد.

به‌منظور ایمنی هر چه بیشتر فرآورده‌های پلاسمایی باید غیر فعالسازی ویروسی و همچنین حذف ویروسی صورت گیرد. میزان ویروس بستگی به تعداد افراد اهدا کننده آلوده که پلاسمای آن‌ها 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 آنتی‌بادی HCV حدود ۱ تا ۲٪ می‌باشد. برای پاروویروس B19 این شیوع حدود یک در ۷۰۰۰ تا یک در ده هزار می‌باشد. 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 می‌شود که با وجود اعمال روش‌های ایمن‌سازی گفته شده مانند غربالگری اهداکنندگان، هنوز اعمال روش‌های مختلف ویروس‌زدایی بر روی خط تولید فرآورده‌های دارویی برگرفته از پلاسما دارای اهمیت باشد. جدول ۳ دوره پنجره تخمینی برای ویروس‌های HBV، HCV، HIV را نشان می‌دهد. در حقیقت دوره پنجره، دوره‌ای است که در آن تیتر ویروسی بالا می‌رود پیش از این‌که آنتی‌بادی خود را در چرخه خون نشان دهد. با معرفی فناوری Nucleic acid testing (NAT)، امکان شناسایی بهتر نوکلئیک اسید فراهم گردیده است، چون نوکلئیک اسید به خود ویروس مربوط می‌گردد تا به جواب میزبان به عفونت. از این‌رو NAT دوره پنجره را به حداقل می‌رساند. انتقاد اصلی که به غربالگری

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-06-15]

جدول ۱: مشخصات بعضی ویروس‌های منتقله از راه انتقال خون

ویروس	ژنوم	پوشش	اندازه (nm)
ویروس هپاتیت A	ssRNA	no	۲۸–۳۰
ویروس هپاتیت B	dsDNA	Yes	٤٠–٤٥
ویروس هپاتیت C	ssRNA	Yes	٤٠–٤٥
HIV	ssRNA	Yes	۱۳۰–۸۰
Parvovirus B19	ssDNA	no	۱۸–۲٦

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

ویروس	شیوع	تیتر ویروسی (GE/ml)
ویروس هپاتیت A	۱/۵۰۰,۰۰۰	$۱۰^{۳}$–$۱۰^{۵}$
ویروس هپاتیت B	۱/۱۰,۰۰۰	$۱۰^{۳}$–$۱۰^{۸}$
ویروس هپاتیت C	۱/۵۰–۱/۱۰۰	$۱۰^{٤}$–$۱۰^{٦}$
Parvovirus B19	۱/۱۰۰۰–۱/۷۰۰۰	$۱۰^{۳}$–$۱۰^{۱۲}$

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

ویروس	دوره پنجره بدون فنآوری NAT	دوره پنجره با فنآوری NAT
HBV	۵۹	٤۹
HCV	۸۲	۹
HIV	۲۲	۱۰

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 غیر فعال‌سازی ویروسی از بحرانی‌ترین مراحل کاری در تولید فرآورده‌های دارویی مشتق از پلاسما می‌باشد.[۳۳-۳۱]

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 به‌عمل 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،

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-06-15]

که می‌توانند دارای پوشش لیپیدی و یا بدون پوشش باشند. اندازه ویروس‌ها می‌تواند از کوچکترین اندازه مانند پارووویروس تا متوسط مانند HBV باشد. از این‌رو روش اعمال شده باید نشان از آن باشد که قادر است حذف و یا غیر فعال‌سازی 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 ٤ 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 تیتر بالا از ویروس‌های مدل می‌باشد. برای مثال برای ویروس هپاتیت C، ویروس‌های تب زرد، Semliki Forest virus (SFV), Sindbis virus (SIN) و Bovine viral diarrhea virus (BVDV) را می‌توان نام برد که طیف این ویروس‌ها دارای غشاء لیپیدی و ژنوم RNA و اندازه ٤٠ تا ٥٠ nm می‌باشد. در جدول ٤ همچنین ویروس‌های مدل برای هپاتیت A، B، HIV و پارووویروس 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 تیتر 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.[۳٤-۳۹] پس از اعمال ویروس‌زدایی بار دیگر تیتر ویروسی اندازه‌گیری می‌شود. روشی موثر است که حداقل بتواند ٤ log کاهش ویروسی را موجب گردد و روش‌هایی که موجب ۱ log کاهش ویروسی می‌گردند به‌عنوان روش موثر شناخته نمی‌شوند.

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.[٤٠]

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 تیتر ویروسی کمتر از ٤ log می‌باشد، این مراحل، ویروس‌زدایی را به‌صورت ضعیف اعمال می‌نمایند و از آن‌ها نمی‌توان به‌عنوان روش‌های ویروس‌زدایی قوی یاد کرد. مراحلی 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 پروتیین مورد نظر)، همچنین کروماتوگرافی ایمونوافینیتی 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 تیتر ویروسی بیش از ٤ log می‌شود، به‌کار برده شود.[٤١-٤٣] این روش‌های موثر شامل روش حلال/ شوینده[٤٤-٥٠] (که در آن محلول پروتیینی در حضور حلال آلی تری-ان-بوتیل فسفات و شوینده تریتون X 100 یا توین ۸۰ یا سدیم کولیت، اینکوبه می‌شود)، پاستوریزاسیون[٥١] (که محلول به‌مدت ۱۰ ساعت ٦٠ °C حرارت داده می‌شود)، حرارت خشک[٥٢-٥٦]، حرارت مرطوب[٥٧]، pH اسیدی[٥٨]، بتاپروپیولاکتون/ پرتو ماوراء بنفش[٥٩-٦١] و نانوفیلتراسیون[٦٢-٦٦] می‌باشد.

جدول ٥ فراوانی موارد استفاده از فنآوری‌های 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 دناتوره کردن پروتیین 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 و پروپیولاکتون، نوکلئیک اسید ویـروس تجزیه می‌گردد. از این‌رو در

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-06-15]

جدول ٤: 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
پارووویروس B19	Canine parvovirus, Porcine parvovirus

جدول ٥: فراوانی استفاده از برخی روش‌های ویروس‌زدایی

داروی بیولوژیک	حلال/شوینده	پاستوریزاسیون	حرارت مرطوب	حرارت خشک	pH ٤	بتا-پروپیولاکتون	نانو-فیلتراسون
آلبومین		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

ویروس‌زدایی فرآورده‌های دارویی مشتق از پلاسما باید از روش‌هایی به‌صورت توام استفاده نمود که مکمل یکدیگر باشند و اطمینان حاصل شود که کمترین خطر تشکیل نئوآنتی‌ژن‌های پروتیین‌های 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 از ضریب ایمنی نسبی برخوردار باشد. از این‌رو 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)[٦٧و٦٨] از روش دیگری نیز استفاده شود (روش‌های حرارتی[٦٩] یا نانوفیلتراسیون[٧٠و٧١] که موثر بر ویروس‌های بدون پوشش باشد، تا ایمنی دارو از لحاظ آلودگی تا میزان بالایی افزایش یابد.[٧٢]

References

1. Benjamin RJ, McLaughlin LS. Plasma components: properties, differences, and uses. *Transfusion* 2012;52 Suppl 1:9s-19s.
2. Schneider T. Therapeutic plasmas. *Transfus Clin Biol* 2012;19(4-5):148-9.
3. Burnouf T. Plasma fractionation in the world: current status. *Transfus Clin Biol* 2007;14(1):41-50.
4. Mousavi Hosseini K, Nikougoftar Zarif M. Preparation of plasminogen by affinity chromatography. *Iran J Blood Cancer* 2014;6(4):163-7.
5. 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.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-06-15]

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 Shooshtari M, Mousavi Hosseini K. Evaluation of the plasma quality after filtration. *DARU* 2010;18(2):114-7.
13. Nesterova NV, Kurkina OV, Samoilenko VA, Skrynnyk 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 aeroginosa. *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, Burnouf 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

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-06-15]

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 freh 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. *Tranfus Apher Sci* 2016; [Epub ahead of print].
50. Segura A, Leon G, Su CY, Guterrez 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 Zeland 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 viru inactivation. *Ann N Y 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 ß-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.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-06-15]

TUMJ Tehran University Medical Journal, July 2017; Vol. 75, No. 4: 251-258 Review Article

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.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-06-15]