



پلاسما

و صنعت پالایش پلاسما

دکتر علی اصغر صفری فرد (PhD)

نویسنده، مشاور و مدرّس

QMS, GMP, GSP/GDP, GLP & Cleanroom



بهترین سلام ها و درودهای خداوند، فرشتگان، عرفا و صلحا

تقدیم به روح مطهر خواجه دو عالم، حضرت رسول اعظم (ص) و خاندان گرانقدرش



پلاسما

و صنعت پالایش پلاسما

دکتر علی اصغر صفری فرد (PhD)

نویسنده، مشاور و مدرّس

QMS, GMP, GSP/GDP, GLP, QRM
& Cleanroom

۰۹۱۲۲۱۳۷۱۴۴

سوابق تدریس دکتر علی اصغر صفری فرد (PhD)

QMS, GMP, GLP, GSP/GDP, QRM & Cleanroom

شرکت های تولیدی: داروسازی ثامن - مشهد مقدس، دکتر عبیدی، سرم سازی شهید قاضی - تبریز، شفا فارمد، ایران هورمون، جابرین حیان، گروه دارویی برکت، کارخانجات دارویی، تولید مواد اولیه دارویی (نماد)، شیمی دارویی دارویی، توزیع دارویی، رازک، اکتو ورکو، هلال ایران (سها)، فارابی - اصفهان، لابراتوار داروسازی و بهداشتی شفا، ابوریحان، لابراتوار دارویی سینادارو، لقمان، پوش دارو - پردیس، کیمیاگران امروز - سازند اراک، فارما شیمی، توفیق دارو، ارسطو - ساوه، آوه سینا - ساوه، نشاط دارو - ساوه، سه دال ناو - ساوه، بهان سار - ساوه، پارس نمک کاوه - ساوه، اکسیر - بروجرد، دنون لبنی پارس (محصولات دنت) - قزوین، داروسازی کوثر، صنایع دینه ایران - قزوین، طبیب درمان پژوهش قلب - کاشان، بدیده شیمی جم، هستی آریا شیمی، آریب سلامت سینا، طبیعت زنده (سینره)، واریان فارمد، فارما زند، آتی درمان، رستاک طب پارسه، رهاورد تامین - ساوه، آفاشیمی، رویان دارو - سمنان، فرآیند شیمی حکیم - تاکستان، مصون دارو، بازاریابی شبکه ای مروراید پنبه ریز، پیشگامان سنجش ایستاتیس، گروه شرکت های درمان یاب، شرکت مادر تخصصی پالایش و پژوهش خون، مراکز پلاسما فرزس تولیدی بیودارو، داروپلازما ایرانیان - قائمیه، دایا آریب دارو - شهر ری، خوارزمی - اسلام شهر و فردیس - البرز

صنایع: صنایع الکترونیک ایران - صا ایران (وزارت دفاع و پشتیبانی نیروهای مسلح)، سازمان پژوهش و نوآوری های دفاعی - سپند (وزارت دفاع و پشتیبانی نیروهای مسلح)، سازمان انرژی اتمی ایران (شرکت پارس ایزوتوپ)، مجتمع فولاد جادرملو - اردکان یزد، شرکت فولاد غدیر ایرانیان - اردکان یزد، کارخانه گندله سازی سه چاهون - بافق یزد، شرکت آهن و فولاد ارفع، خودروسازی زامیاد، خودروسازی پارس خودرو، خودروسازی سیلان خودرو مایوان - اردبیل، نفت ایرانول، شرکت سرمایه گذاری دارویی تامین (تیبیکو)، گروه صنعتی مینو، پردازش تصویر رایان، تصویر نگار جاوید، گروه صنعتی مهر ابرار، بخش ممتاز، شرکت میلان پارس فارمد - تبریز، شرکت نوآوران سلامت ارزنگ

دانشگاه ها: دانشگاه فرماندهی و ستاد (دافوس) ارتش جمهوری اسلامی ایران، وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، دانشگاه علوم پزشکی تهران (مرکز تحقیقات و بانک فرآورده های بیوندی ایران - پژوهشکده ژن، سلول و بافت)، دانشگاه علوم پزشکی تبریز (مرکز رشد بیوتکنولوژی دارویی)، سازمان انتقال خون ایران (ستاد مرکزی و ادارات کل انتقال خون استان های تهران، خراسان رضوی، کهگیلویه و بویراحمد، سمنان و خراسان شمالی) موسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون، واحد الکترونیک دانشگاه آزاد اسلامی، سازمان جهاد دانشگاهی

مراکز تحقیقاتی و پژوهشی: مجتمع تولیدی تحقیقاتی انستیتو پاستور ایران، موسسه واکسن و سرم سازی رازی - حصارک کرج، پژوهشگاه رویان، شرکت فناوری پنبه یاخته های رویان، شرکت زیست فن آوری کوثر

سازمان ها و انجمن ها: انجمن تولید کنندگان و صادرکنندگان تجهیزات و ملزومات پزشکی و دارویی، هیات امنای صرفه جویی ارزی، بسیج جامعه پزشکی ایران، بسیج جامعه پزشکی سازمان انتقال خون ایران، انجمن علمی جراحان عمومی ایران، انجمن علمی پیرونتولوژی ایران، انجمن تالاسمی ایران

موسسه های آموزشی: افق فارمد، نوآوران صنعت پوبای پیشرو، مرکز آموزش و تحقیقات صنعتی ایران، مدیریت بهین آفرین رهیار یزد، آفاق صنعت، دانش پویان، تسهیلگران توسعه تفکر، کاوشگران راستین، فیدار دانش، مرزبان کیفیت دانش، اکسیر دانش، معیار دانش اصفهان، بهینه پرداز آرتا قزوین، نوبانگ اندیشه زنجان، حامیان توسعه اصفهان، نوین پارسیان کرج، آکادمی مدیریت دانش نوین

فصل اول: خون چیست؟ پلازما چیست؟	۵
فصل دوم: فرآورده‌های پلاسمایی	۱۴
فصل سوم: صنعت پالایش پلازما	۴۲
فصل چهارم: روند کاری پالایش پلازما	۶۱
فصل پنجم: ویروس‌زدایی پلازما و فرآورده‌های پلاسمایی	۷۶
فصل ششم: اقتصاد صنعت پلازما	۹۰
فصل هفتم: پالایش قراردادی	۱۰۴
فصل هشتم: منابع مورد استفاده	۱۱۴

فصل اول

خون چیست؟ پلاسما چیست؟

بافت مایع بدن را خون می نامند که به دلیل جریان داشتن در تمام بدن برعکس بافت‌های دیگر که دارای یک وظیفه خاص هستند، وظایف متعددی به عهده دارد. خون شامل دو بخش عمده است. بخش سلولی که شامل گلبول‌های قرمز، گلبول‌های سفید و پلاکت‌ها می باشد. بخش دیگر مایع پلازما است که به عنوان بستری برای حرکت سلول‌های زنده خون و حمل و جابه‌جایی مواد مختلف (از جمله پروتئین‌ها، لیپیدها، گلوکوسیدها، املاح معدنی و سایر مواد موجود در خون) به بافت‌ها به شمار می‌رود.

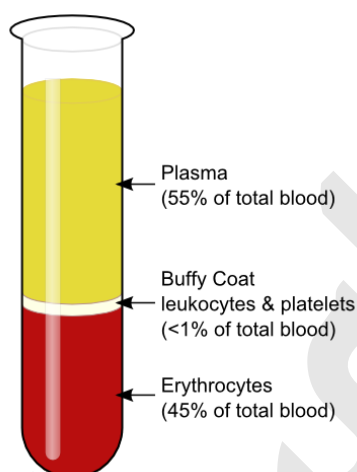
خون ۷ تا ۸ درصد وزن بدن را تشکیل می دهد و با جریان در رگ‌ها عهده‌دار وظیفه مهم رساندن مواد مغذی مثل اکسیژن، گلوکز، ویتامین‌ها و الکترولیت‌ها به بافت‌های مختلف و حمل مواد زائد مثل دی اکسید کربن، اسیدلاکتیک از بافت‌ها به اندام‌هایی که وظیفه دفع یا تبدیل آن‌ها را به عهده دارند، است. وظیفه مهم دیگر خون تشخیص اجسام خارجی مانند باکتری‌ها و ویروس‌ها و دفاع از بدن در مقابل آن‌ها و از بین بردن آن‌ها می باشد.

بنابراین خون یک بافت ثابت نیست بلکه یک مجموعه است و از دیدگاه پزشکی نیز یک دارو نیست بلکه یک کارخانه تولید دارو است. مصرف کننده خون در موارد بسیار استثنایی به کل خون نیازمند است و بیشتر به سلولی خاص یا پروتئینی با کاربری ویژه احتیاج دارد. در صورت تجویز خون کامل، شاید مشکل وی به نوعی حل گردد ولی مطمئناً به دلیل سرباری بیش از حد مواد و سلول‌های غیرلازم، مشکلات عدیده‌ای برای وی ایجاد خواهد شد. به همین دلیل در مراکز مرتبط به خون بخشی به نام بخش تولید فرآورده‌های سلولی و پلاسمایی وجود دارد که سلول‌های زنده خون را از پلازما جدا کرده، هر قسمت را مستقلاً برای مصرف آماده می نماید.

پلاسمای انسانی هم ماده‌ای حیاتی و منحصر به فرد است، چرا که حاوی بیش از ۲۰۰ ترکیب بیوشیمیایی، شامل صدها پروتئین که اعمال فیزیولوژیکی زیادی را پوشش می‌دهند است و علی‌رغم آن که اهمیت بالینی برخی از آن‌ها مشخص گردیده، هنوز هم بسیاری از آن‌ها کاملاً شناخته نشده‌اند (۱).

سلول‌های خون در پلازما غوطه ور هستند. پلازما حدوداً ۵۰ درصد خون را تشکیل می‌دهد و از آب، الکترولیت‌ها، ویتامین‌ها، مواد مغذی و صدها ماده دیگر تشکیل شده است. ۹۱ تا ۹۲٪ پلازما را آب و ۶ تا ۸٪ آن را پروتئین‌ها تشکیل می دهد. پروتئین‌ها شامل انواع آنزیم‌ها، هورمون‌ها و آنتی بادی‌های مختلف و از مهمترین اجزا پلازما هستند، هر یک نقش ویژه‌ای در فعالیت حیاتی بدن دارند. همچنین هر یک از این پروتئین‌ها ممکن است در تشخیص و درمان بیماری‌های مختلف، مفید و قابل استفاده باشند.

ساختمان و عملکرد تعدادی از این پروتئین‌ها شناخته شده است و بسیاری از آن‌ها همچنان به عنوان موضوعات تحقیقاتی و احتمالاً کشف راه‌های جدید تشخیص و درمان بیماری‌ها و ساخت داروهای جدید مورد توجه هستند.



امروزه فرآورده‌های مشتق از پلاسما، قسمت عمده‌ای از داروهای مورد مصرف انسان را تشکیل می‌دهند (۲) - (۳). به دلیل قابلیت تولید چند محصول از یک ماده اولیه واحد، پالایش پلاسمای انسانی، هنوز هم مهمترین رویکرد بیوتکنولوژیک برای تولید این فرآورده‌ها محسوب می‌شود (۴) و ویژگی‌های پلاسمای اولیه تاثیر به‌سزایی در کیفیت محصولات نهایی دارد. (۵)

پلاسما حاوی پروتئین‌های مهمی نظیر آلبومین، ایمونوگلوبولین‌های مختلف، فاکتورهای انعقادی و ضد انعقادی، پروتئازهای بازدارنده و فاکتورهای رشد می باشد. غلظت این مواد نیز طیف وسیعی را شامل می‌گردد که از ۴۰ گرم در لیتر درمورد آلبومین و ۱۰ گرم در لیتر ایمونوگلوبولین IgG که حدود ۰.۸٪ کل پروتئین‌های پلاسما را تشکیل می‌دهند تا ۱ پیکوگرم در لیتر در مورد فاکتور رشد متغیر است. آلبومین مسئول فشار اسمزی کلئیدی پلاسما است، ایمونوگلوبولین‌ها در برابر عفونت‌ها موثر بوده و فاکتورهای انعقادی در انعقاد خون نقش به‌سزایی دارند.

مقادیر کمی از پروتئین‌ها شامل مهارکننده‌های پروتئازی مثل آلفا- یک آنتی تریپسین (۱/۵ گرم در لیتر) و آنتی ترومبین (۳۰۰ میلی گرم در لیتر) و فاکتورهای انعقادی مثل فاکتور VIII مقادیر کمتر از ۰/۰۱ درصد کل پروتئین‌های پلاسما را تشکیل می‌دهند اما فعالیت^۱ بالایی دارند. فیبرینوژن به میزان حدود ۳ گرم است.

از یک لیتر پلاسما، مراکز پالایشگاهی به طور معمول این بازده تولیدی را دارند: (۶)

- ۲۵ تا ۲۸ گرم آلبومین
- ۱۵۰ تا ۲۰۰ واحد بین‌المللی فاکتور VIII انعقادی
- ۲۵۰ تا ۳۰۰ واحد بین‌المللی فاکتور IX انعقادی
- ۳ تا ۵ گرم ایمونوگلوبولین تزریقی داخل وریدی (IVIG)
- ۲۵۰ واحد بین‌المللی آنتی ترومبین III
- ۰/۲ گرم آلفا- یک آنتی تریپسین
- مقادیر مختلفی محصولات ایمونوگلوبولین اختصاصی بر اساس میزان تیتراژ آنتی‌بادی موجود در پلاسما (۷)

واقعیت این است که از حدود ۶۰ گرم پروتئین موجود در پلاسما، حدود ۵۵ گرم آن ارزش درمانی دارد (۸) و بر اساس آخرین گزارش سازمان جهانی بهداشت^۲ (WHO) در سال ۲۰۲۱ حدود ۳۰ محصول اصلی از پلاسما^۳ انسانی جدا شده است (۹).

مشتقات پلاسما به فرآورده‌هایی می‌گویند که از حجم بزرگی از پلاسما جمع‌آوری شده از اهدا کنندگان مختلف استخراج می‌شوند مصرف اصلی پلاسما در پالایش^۳ پلاسما شامل استخراج و خالص سازی صنعتی پروتئین‌ها و عرضه آن‌ها به صورت دارو می‌باشد.

نقش اصلی پروتئین‌های مشتق از پلاسما که در پزشکی مصارف درمانی دارد عبارتند از:

1 Activity
2 world Health Organization
3 Fractionation

- جایگزین نمودن برخی از مولکول‌ها که بصورت مادرزادی یا اکتسابی در بیماران کاهش یافته است مثل مصرف فاکتور VIII انعقادی در بیماران مبتلا به هموفیلی A
- جلوگیری یا کند کردن روند بیماری که معمولاً وابسته به سیستم ایمنی است مانند استفاده از ایمونوگلوبولین اختصاصی ضد Rh برای جلوگیری از ایجاد حساسیت در مادرانی که Rh منفی بوده و نوزاد Rh مثبت بدنیا آورده اند یا تزریق ایمونوگلوبولین وریدی در بیمارانی که از پورپورای ترومبوسیتوپنی ایدیوپاتیک⁴ (ITP) رنج می‌برند.
- **گسترش دارویی:** به جای استفاده از چندین کیسه خون در یک محل و برای یک بیمار، محصولات به‌دست آمده از مشتقات پلاسمایی خون می‌تواند در محل‌های مختلف با فاصله زمانی متفاوت در اختیار نیازمندان با مشکلات مختلف قرار گیرد.



محصولات دارویی مشتق از پلاسما

پلاسمای انسانی، منبع مناسبی از پروتئین‌ها می‌باشد که خاصیت درمانی دارند و می‌توانند توسط بیماران مورد استفاده قرار گیرند. پلاسمای انسانی، ممکن است به عنوان محصول دارویی مورد استفاده قرار گیرد که به نام پلاسمای بالینی/کلینیکی یا پلاسمای

⁴ Idiopathic thrombocytopenia Purpura

منجمد تازه^۵ (FFP) شناخته می‌شود و یا به عنوان ماده اولیه جهت تولید محصولات دارویی مشتق از پلاسما به کار رود (که به نام فرآورده‌های پلاسمایی و یا مشتقات پلاسمایی نامیده می‌شود).

از مهمترین مزایای استفاده از فرآورده های پلاسمایی می‌توان به این موارد اشاره نمود:

- **کم شدن حجم دارو و بازدهی بیشتر:** برای مثال در بیماران هموفیلی به جای استفاده از چند لیتر خون برای جلوگیری از خونریزی و جبران کمبود فاکتور VIII انعقادی می‌توان از چند میلی لیتر فاکتور VIII جداسازی شده استفاده کرد که مطمئناً بازدهی بیشتر و موثرتر خواهد داشت.
- **خالص سازی دارو:** بیمار، دارویی به مراتب خالص‌تر و عاری از سلول‌های خون و دیگر مواد غیر ضروری را دریافت می‌کند.
- **تبدیل شرایط اختصاصی دارو به شرایط عمومی:** مصرف خون کامل به رعایت شرایط کاملاً اختصاصی نیاز دارد مانند سازگاری گروه خون که نیازمند به آزمایش‌های پیچیده و وقت‌گیر است، ولی مصرف پروتئین‌های خالص همانند مصرف داروهای عمومی است و بیمار به راحتی می‌تواند در شرایطی غیر از مراکز درمانی نیز داروی مورد نظر را مصرف کند.
- **طولانی‌تر شدن عمر دارو:** وجود سلول‌های زنده در خون کامل اجباراً عمر نگهداری و مصرف آن را بسیار کاهش می‌دهد و با توجه به عمر سلول‌ها، حداکثر به چندروز می‌رسد ولی مدت زمان مصرف پروتئین‌های مشتق از پلاسما حتی تا چندین سال نیز می‌تواند باشد.
- **نگهداری و حمل و نقل دارو:** نگه داری و حمل و نقل داروهای تهیه شده از پلاسما به دلیل ویژگی‌هایی چون نگهداری در ظروف شیشه ای، لیوفیلیزه بودن، حجم کم و تحمل دما، به راحتی امکان پذیر است و نیاز به شرایط سخت نگه داری و حمل و نقل کیسه خون ندارد.

• **ایجاد تنوع دارویی:** در روش مرسوم مصرف خون کامل، چندین اهدا کننده در خدمت یک بیمار هستند ولی با

جداسازی اجزاء پروتئینی آن، هریک جزء خونی می تواند در خدمت بیماری خاص قرار گیرد. بنابراین، خون یک اهدا کننده

می تواند نیاز چندین بیمار را برطرف نماید.

اگرچه بیشتر از ۳۰۰ پروتئین مختلف در پلازما وجود دارد، در حال حاضر حدود ۳۰ عدد آنها برای اهداف درمانی شناخته شده و

از لحاظ اقتصادی قبل دسترس هستند. این داروها برای درمان بیماری های تهدید کننده زندگی یا صدمات بدنی مانند خونریزی و

اختلالات انعقادی، بیماری های ایمونولوژیکی، موارد عفونی و بیماری های تحلیل برنده بافتی^۶ مورد استفاده قرار می گیرند.

مهمترین فرآورده های مشتق از پلازما فاکتورهای انعقادی مانند فیبرینوژن، کنسانتره فاکتور VIII، کنسانتره فاکتور IX، مخلوط

کنسانتره کمپلکس پروترومبین، کنسانتره فاکتور VIIa، کنسانتره فاکتور Von Willebrand، ترومبین، آلبومین، ایمونوگلوبولین های

چند ظرفیتی و فوق ایمنی (یا اختصاصی)، چسبها (selants) مانند چسب فیبرین به عنوان عامل منعقد کننده و مهار کننده های

پروتئاز هستند (۱۰). محصولات کمتر شایع شامل آنتی ترومبین برای فقر ارثی یا اکتسابی، مهار کننده های پروتئاز مانند کنسانتره

مهار کننده C-1 استراز برای آنژیو ادم ارثی، آلفا-۱ آنتی تریپسین برای نقص مادرزادی و فیبروز کیستیک، پروتئین C فعال برای

نقص مادر زادی و عفونت، کنسانتره فاکتور XI برای نقص مادرزادی، کنسانتره فاکتور VII برای نقص مادرزادی، کنسانتره فاکتور

XIII برای نقص مادرزادی و آپوتراستفرین به عنوان پروتئین هدف برای شیمی درمانی و یا برای کمبود ترانسفرین می باشند. به دلیل

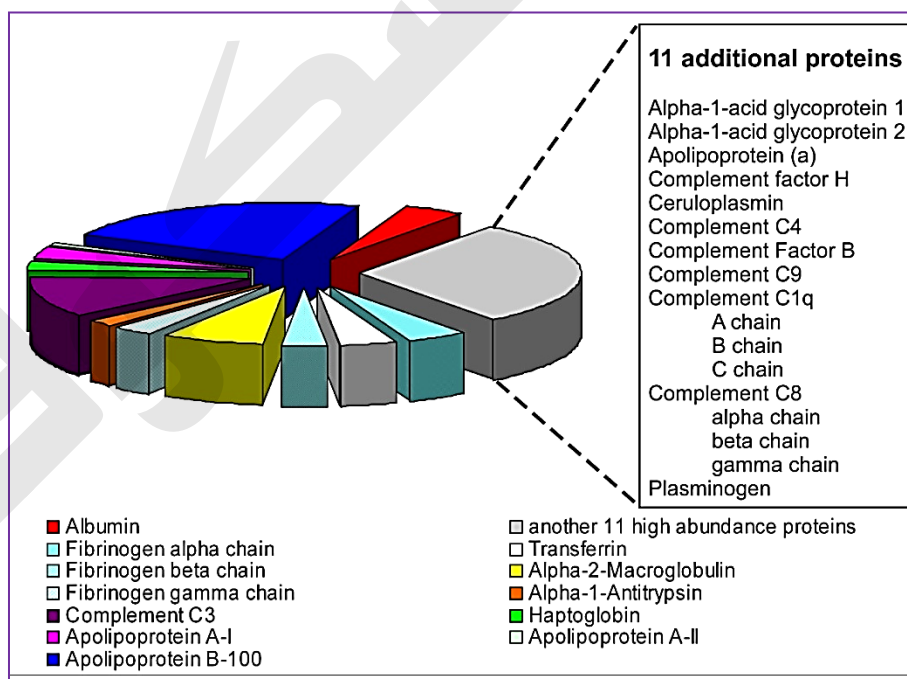
تنوع فراوان پروتئین ها، محصولات دارویی زیستی گوناگونی را می توان از پلاسمای خون تهیه نمود. معروف ترین و متداول ترین آنها

که در بیشتر پالایشگاه های پلازما تولید می گردند به شرح زیر است:

- **فاکتور VIII انعقادی انسانی:** به صورت پودر لیوفیلیزه تولید و نیاز بیماران هموفیلی نوع A را تامین می کند.
- **فاکتور IX انعقادی انسانی:** به صورت پودر لیوفیلیزه تهیه شده، نیاز بیماران هموفیلی نوع B را تامین می کند.
- **آلبومین انسانی:** مهمترین فعالیت فیزیولوژیک آلبومین، مشارکت در پایدار سازی فشار انکوتیک خون و حمل و انتقال مواد (هورمون ها، آنزیم ها، فرآورده های دارویی و سموم) می باشد. آلبومین در غلظت های مختلف تهیه و در

بیماران قلبی و سوختگی‌ها و جهت ترمیم و حفظ حجم خون در گردش، در جایی که کمبود حجم ثابت شده است، مورد مصرف قرار می‌گیرد.

- ایمونوگلوبولین‌های وسیع الطیف
- ایمونوگلوبولین‌های اختصاصی یا هیپر ایمیون
- ایمونوگلوبولین تزریقی وریدی نرمال (IVIG): محصول گاماگلوبولین وسیع‌الطیفی است که عمدتاً در بیماری‌های عفونی، درمان کمبود مادرزادی گاماگلوبولین و بیماری‌های خود ایمنی، درمان جایگزینی سندروم‌های نقص ایمنی اولیه و اکتسابی و در موارد کمک به افزایش توانایی سیستم ایمنی بدن مصرف می‌گردد.
- فیبرینوژن و فیبرونکتین
- چسب فیبرین



پلاسما، منبع فرآورده‌های دارویی گوناگون

محصولات تازه با پتانسیل درمانی که در حال توسعه هستند شامل کنسانتره فاکتور V و کنسانتره فاکتور X برای نقص مادرزادی، محلول هموگلوبین برای حمل و نقل اکسیژن، هاپتوگلوبین برای درمان سوختگی، لکتین اتصالی مانوز برای فقر ایمنی، a-اسید گلیکوپروتئین به عنوان عامل ضد عفونی، بوتریل کولین استراز^۷ برای جبران سوء مصرف کوکائین، پروتئین C-reactive به عنوان عامل ضدباکتری و هموپکسین^۸ برای درمان همولیز می‌باشند. علاوه بر این تحولات، تحقیقات و تلاش مداوم جهت استخراج پروتئین بیشتر از پلاسما برای درمان بیماران در حال انجام است. (۱۱)

7 Butyrylcholine esterase
8 Hemopexin

فصل دوم

فرآورده‌های پلاسمایی

پلاسمای منجمد تازه (FFP)

برای تهیه پلاسمای منجمد تازه، کیسه‌های خون کامل را با دور تند سانتریفیوژ کرده، پلاسما را جدا می‌کنند. سپس پلاسمای جداسازی شده را به سرعت منجمد می‌نمایند. انجماد بایستی در سیستمی صورت گیرد که پلاسما در ظرف مدت یک ساعت در برودت کمتر از -30°C درجه سانتی گراد منجمد شود.

برای تهیه این فرآورده باید حداکثر تا ۶ ساعت بعد از اهدای خون اقدام کرد. خون‌هایی که زمان جمع‌آوری آن‌ها بیش از ۱۰ دقیقه طول بکشد برای تهیه فرآورده‌های پلاسمایی جهت مصرف مستقیم بالینی مناسب نیستند. روش تهیه باید قابل اطمینان بوده تا فرآورده دارای حداکثر فاکتورهای انعقادی و حداقل عناصر سلولی خون (گلبول قرمز، پلاکت و گلبول سفید) باشد.

واحدهای خون کاملی که برای تهیه FFP بکار می‌روند باید در حین فرآیند خون‌گیری با ماده ضد انعقاد به خوبی مخلوط شوند چون هرگونه فعالیت سیستم انعقادی باعث کاهش فعالیت این فاکتورها در پلاسمای حاصل خواهد شد. این فرآورده همانند یک پلاسمای نرمال دارای فاکتورهای انعقادی پایدار (II, VII, IX و X)، آلبومین و ایمونوگلوبولین می‌باشد و حاوی حداقل ۷۰٪ فاکتور VIII اولیه و نیز به همین مقدار از سایر فاکتورهای انعقادی ناپایدار (مانند V) است.

پایداری محصول بستگی به دمای نگهداری آن دارد. دمای مطلوب -30°C درجه سانتی گراد یا پایین‌تر است ولی می‌توان در -18°C درجه سانتی گراد نیز نگهداری کرد که چنانچه در این برودت نگهداری شود می‌توان تا یک‌سال به عنوان منبعی غنی از فاکتورهای انعقادی پایدار و غیر پایدار از آن استفاده نمود.

در هنگام استفاده از FFP باید آن را در 37°C درجه سانتی‌گراد ذوب و پس از ذوب شدن در عرض ۲ تا ۳ ساعت مصرف نمود. چنانچه پلاسمایی را که پس از ذوب شدن مورد استفاده قرار نگیرد، می‌توان در یخچال در دمای 1°C تا 6°C درجه سانتی‌گراد قرارداد و تا ۲۴ ساعت نیز از آن به عنوان پلاسمای تازه بهره برد.

هر واحد پلاسمای منجمد تازه بین ۲۰۰ تا ۲۸۰ سی‌سی حجم داشته و هر سی‌سی از آن دارای ۰/۷ تا ۱ واحد فعالیت انعقادی از هر کدام از فاکتورهای انعقادی است. علاوه بر این، هر سی‌سی از این محصول حاوی ۱ تا ۲ میلی گرم فیبرینوژن است.

در تزریق پلاسما، احتیاجی به کراس مچ نیست ولی هم گروهی سیستم ABO بین اهدا کننده و گیرنده را باید رعایت کرد و چنانچه پلاسمای هم گروه بیمار یافت نشود، می توان از پلاسمای اهداکننده گروه AB به عنوان دهنده همگانی پلاسما استفاده نمود، چون این افراد فاقد آنتی A و آنتی B هستند.

میزان درمانی پلاسما جهت تصحیح فاکتور انعقادی، ۸ تا ۱۰ سی سی به ازای هر کیلوگرم وزن بیمار است و در هیچ زمانی نباید بیشتر از ۱۰ تا ۱۵ سی سی به ازای هر کیلوگرم مورد استفاده قرار گیرد چون باعث افزایش حجم خون در بیمار شده و سبب بروز اختلالات قلبی ریوی می شود.

• مهم ترین کاربردهای پلاسمای تازه منجمد:

✓ در بیمارانی که کاهش هم زمان چندین فاکتور انعقادی دارند مانند مبتلایان به بیماری های کبدی، میزان فاکتورهای انعقادی به ویژه فاکتورهای وابسته به ویتامین k که عبارتند از پروتئین C، پروتئین S و فاکتورهای II، VII، IX و X کاهش می یابند و باعث افزایش زمان پروترومبین (PT) می شوند. هنگامی که آزمایش زمان پروترومبین بیمار بیش از ۱۶ تا ۱۸ ثانیه و زمان ترومبین نسبی (PTT) بیمار بیش از ۵۵ تا ۶۰ ثانیه شود احتیاج به تزریق FFP است چون در غیر این صورت امکان خونریزی در بیمار وجود دارد.

✓ متعاقب ترانسفوزیون ماسیو^۹ و تعویض خون: چنانچه بیمار حجمی معادل حجم خون خود در کمتر از ۲۴ ساعت دریافت کند به آن "ترانسفوزیون ماسیو" گویند. در ترانسفوزیون ماسیو، فاکتورهای انعقادی و پلاکت های بیمار با تزریق خون رقیق شده و غلظت کاهش می یابد. بنابراین در این موارد به علت پدیده رقت، امکان خونریزی وجود دارد و توصیه می شود که در این حالت به ازای هر ۵ واحد تزریق خون یک واحد FFP و پلاکت نیز تزریق شود.

✓ بیماران مبتلا به انعقاد داخل عروقی منتشر (DIC): در بیماران مبتلا به انعقاد منتشره داخل عروقی (DIC) به علت مصرف شدن فاکتورهای انعقادی و پلاکت ها گرایش به خونریزی به وجود می آید و در این حالت باید به این بیماران FFP و پلاکت تزریق کرد. در DIC غلظت فاکتورهای انعقادی V، XIII و فیبرینوژن به شدت کاهش می یابد، چنانچه غلظت فیبرینوژن کمتر از ۸۰ میلی گرم درصد باشد تزریق FFP یا کرایو توصیه می شود.

✓ جبران سریع فاکتورهای انعقادی در بیمارانی که میزان زیادی وارفارین مصرف کرده‌اند: در بیمارانی که وارفارین مصرف می‌کنند میزان کارایی فاکتورهای II، VII، IX و X کاهش می‌یابد لیکن چنانچه بیماران فوق خونریزی داشته یا به عمل جراحی فوری نیاز داشته باشد می‌توان با تزریق پلاسمای منجمد تازه فاکتورهای فوق را در بیمار به سرعت جبران نمود.

✓ جایگزینی با پلاسمای بیمار در مبتلایان به سندرم همولیتیک اورمیک (HUS) و ترومبوتیک

رسوب کرایو^{۱۰}

کرایو بخشی از پلاسمای تازه بوده که در سرما غیر محلول است. برای تهیه این فرآورده نخست باید حداکثر ظرف ۶ ساعت پس از اهدای خون، فرآورده FFP را تهیه کرد. انجماد کامل واحدهای پلازما نباید بیش از یک ساعت به طول بکشد. پلاسمای تازه منجمد در ۱۸- درجه سانتی گراد و یا ترجیحاً در ۳۰- درجه سانتی گراد نگهداری می‌شود. حداکثر زمان استفاده از FFP یکسال است. در عرض این مدت یکسال، در هر زمان می‌توان از آن محصول کرایو تهیه کرد. واحدهای FFP که برای تهیه کرایو به کار می‌روند باید حداقل ۲۰۰ سی سی حجم داشته باشند. چنانچه FFP در حرارت ۴ درجه سانتی گراد ذوب شود، تولید رسوب سفید رنگی به نام کرایو می‌کند. پلاسمای ذوب شده در سانتریفیوژ با دمای ۴ درجه با دور تند سانتریفیوژ شده و سپس قسمت اعظم پلاسمای فاقد کرایو^{۱۱} را به یکی از کیسه‌های اقماری منتقل کرده و تنها ۱۰ تا ۱۵ سی سی از آن را روی رسوب کرایو باقی می‌گذارند. کرایو را پس از تهیه باید هرچه زودتر مصرف نمود و یا حداکثر در عرض دو ساعت پس از تهیه در دمای ۳۰- درجه سانتی گراد منجمد کرد. کرایو باید از طریق فیلتر ۲۰۰-۱۷۰ میکرونی (صافی استاندارد) تزریق شود. فرآورده در دمای ۳۰- درجه سانتی گراد و حداکثر تا یکسال قابل نگهداری است.

هر کیسه کرایو در برگیرنده اجزا مختلف زیر است:

✓ فاکتور VIII انعقادی: ۸۰-۱۲۰ واحد

✓ فاکتور فون ویلبراند: ۴۰ تا ۷۰٪ غلظت اولیه

10 Cryoprecipitate
11 Cryo Poor Plasma (CPP)

✓ فاکتور XIII: به میزان ۲۰ تا ۳۰ درصد غلظت اولیه

✓ فیبرینوژن: ۱۵۰ تا ۲۵۰ میلی گرم

✓ فیبرونکتین: حدود ۵۵ میلی گرم

میزان مصرف کرایو معمولاً یک واحد (کیسه) به ازاء هر ۷ تا ۱۰ کیلوگرم وزن بدن می باشد. برای مصرف، ابتدا کرایو باید در ۳۷ درجه سانتی گراد ذوب شود. پس از ذوب شدن نباید دوباره منجمد گردد و لازم است هر چه سریع تر مصرف شود. پس از ذوب شدن فقط تا ۴ ساعت در دمای اتاق و در صورت عدم مصرف به مدت ۲۴ ساعت در یخچال ۶-۱ درجه سانتی گراد قابل نگهداری است.

مهم ترین کاربردهای اصلی کرایو، در موارد کمبود فیبرینوژن (اکتسابی یا مادرزادی)، بیماری فون ویلبراند، کمبود فاکتور XIII انعقادی و هیپرفیبرینوژنولیز می باشند. کاربردهای احتمالی کرایو، خونریزی در بیماران اورمیک، هموفیلی A (در صورتی که فاکتور VIII:C کنسانتره در دسترس نباشد) و موارد کاهش شدید فیبرونکتین هستند. لازم به ذکر است فیبرونکتین گلیکو پروتئینی است که به عنوان اپسونین عمل می کند و تصور می شود که باکتری ها را می پوشاند و بدین وسیله باکتری ها به راحتی توسط فاگوسیت ها از بدن پاک سازی می شوند. در بیماران دچار سوختگی و مبتلا به شوک تروماتیک، فیبرونکتین به شدت کاهش می یابد در نتیجه درمان جایگزین با استفاده از کرایو در بیمارانی که کمبود شدید فیبرونکتین دارند ممکن است به معکوس شدن روند سپتی سمی یا مسمومیت خون در این بیماران کمک کند.



آلبومین

آلبومین فراوان ترین پروتئین موجود در پلاسمای افراد سالم است که در حفظ اسمولاریته^{۱۲} خون نقش اساسی دارد. آلبومین در کبد ساخته می شود و غلظت آن در خون ۴۰ میلی گرم در میلی لیتر است که ۴۰ درصد آن در نقل و انتقال ملکول های دیگر نقش دارد. آلبومین از زنجیره های از ۵۸۵ آمینواسید تشکیل شده و با ۱۷ پل دی سولفیدی ایجاد یک پروتئین کروی نسبتاً پایدار می نماید. با توجه به وزن مولکولی حدود ۶۶۵۰۰ آلبومین، حدود ۸۰٪ فشار آنکوتیک کلئیدی خون را سبب می شود.

آلبومین از لحاظ کمی مهم ترین پروتئین پلازما می باشد. غلظت ۴-۵ گرم آلبومین بر وزن بدن (کیلو گرم) برابر ۳۸-۴۴ گرم آلبومین بر پلازما (لیتر) است. توزیع در بخش داخل عروقی ۴۵-۴۰٪ و در فضاهای خارج عروقی ۶۰-۵۵٪ است. آلبومین دارای ویژگی های هیدروفیلی قوی می باشد و ۱ گرم آلبومین به ۱۸ میلی لیتر آب متصل می شود. با توجه به ساختار خاص آن، عبور آلبومین از غشای مویرگی و حفظ فشار اسمزی کلئیدی و ساختار سه بعدی آن به اتصال مواد فارماکولوژیک و فیزیولوژیک کمک می کند.

در بدن انسان بین ۳۰۰ تا ۵۰۰ گرم آلبومین وجود دارد و روزانه ۱۵ گرم (۲۰۰ میلی گرم برای هر کیلو وزن بدن) آلبومین در کبد ساخته می شود. هر جا که بدن محتاج به آلبومین بیشتری باشد تولید آلبومین با مصرف مواد مغذی تا ۲ برابر بالا می رود. نیمه عمر آلبومین ۲۰ روز است و ۴ درصد آلبومین بدن روزانه تخریب و تجدید می شود.

آلبومین انسانی ۸۰-۶۰٪ از فشار اسمزی کلئیدی را حفظ می کند و نقش مهمی در انتقال مایع خارج عروق و فضاهای داخل عروقی به عنوان مثال افزایش دهنده حجم دارد. حمل و نقل و عملکرد اتصالی آلبومین شامل مواد آندوژن از قبیل بیلی روبین، اسیدهای چرب، فلزات و هورمون ها است. این عملکردها برای جلوگیری از اثرات سمی بیلی روبین و حلالیت اسیدهای چرب آزاد در پلازما مهم هستند. حمل و نقل و عملکرد اتصالی برای مواد خارجی مانند داروها، بر فعالیت های درمانی آنها دارد. نقش پاک کنندگی آلبومین به عنوان مثال از بین بردن رادیکال ها و پیشگیری از پراکسیداسیون لیپیدی است. در نهایت آلبومین برای جلوگیری از تغییرات در غشاء سلولی حائز اهمیت است. دیگر خواص حفاظتی آلبومین از جمله فعالیت آنتی اکسیدانی، میل اتصال، مهار آپوپتوزیس و تنظیم پاسخ التهابی مهم هستند.

آلبومین آخرین جزء به دست آمده در پروسه پالایش پلاسما و یکی از رایج‌ترین فرآورده‌های مشتق از آن است. با فهم بهتر پاتوفیزیولوژی بیماری‌ها، استفاده از آلبومین در روندهای بالینی بیشتر مورد چالش قرار گرفته و علی‌رغم گذشت دهه‌ها از تحقیقات بالینی، ارزش تجویز آلبومین به مقدار زیادی مورد پرسش واقع شده است. به هر حال کاربردهای رایج آلبومین شامل درمان جایگزینی حجم، افزایش فشار آنکوتیک کلئیدی، حفظ سطوح آلبومین سرم (در موارد هیپوآلبومینمی) به عنوان یک مولکول ناقل، پاک کننده رادیکال‌های آزاد و حفظ یکپارچگی غشایی، مدیریت تغییرات مایعات به عنوان عامل اسموتیک در بیماران دچار سوختگی شدید و بیماری‌های کبدی همراه آسیت می‌باشد. (۱۲)

از آن‌جا که آلبومین در شخص سالم نمی‌تواند مویرگ‌ها را ترک کند لذا نقش کلیدی در نگهداری فشار آنکوتیک در عروق خونی دارد. فشار آنکوتیک نیرویی است که آب را از محلول‌های با غلظت کمتر به محیط‌های با غلظت بیشتر، از راه یک غشاء تراوای انتخابی می‌کشد. غلظت آلبومین در جریان خون بیشتر از بیرون آن است، در نتیجه آب به درون عروق خونی کشیده می‌شود. آلبومین آب را جذب می‌کند و این در عروق خونی باقی مانده و به بافت‌ها نشت نمی‌کند. در این راه مقدار آب در جریان خون تقریباً ثابت و پایدار باقی می‌ماند.

آلبومین مسئول حمل و نقل مواد در خون، هم مواد داخلی بدن و هم مواد خارجی مانند داروها می‌باشد. عمل کرد دیگر آلبومین نگهداری سیالیت خون است. آلبومین برای درمان و جلوگیری از اشکال متفاوت شوک برای مثال در هنگام از دست دادن خون یا اتساع عروق که حجم خون گردش ناکافی است و برای اطمینان از جریان کافی خون به بافت‌ها تجویز می‌گردد. کم شدن حجم خون ممکن است در نتیجه خونریزی حاد، به عنوان مثال در نتیجه جراحی، سوختگی یا مسمومیت خونی باشد.

آلبومین تنظیم کننده اصلی فشار آنکوتیک^{۱۳} محسوب می‌شود (۱۳) از این رو به منظور بازگرداندن و حفظ حجم جریان خون در مواردی نظیر سوختگی‌ها، اعمال جراحی، خونریزی و تعویض پلاسما که حجم خون کاهش می‌یابد و نیز در شرایطی مانند سندرم نفروتیک، سیروز کبدی، هیپوآلبومینمی و سندرم زجر تنفسی حاد مورد استفاده قرار می‌گیرد. (۱۴) افزون بر این، باتوجه به نقشی که در اتصال به بیلیروبین و انتقال آن به محل دفع دارد، استفاده از آن در مراحل درمان بیماری‌های همولیتیک نوزادان در دستور کار پزشکان قرار می‌گیرد. (۱۵)

در پروسه پالایش پلاسما، دو نوع عمده از محلول‌های آلبومین وجود دارد: آلبومین ۴-۵٪ و آلبومین ۲۵-۳۰٪. آلبومین ۴-۵٪ با ایمنی به عنوان افزایش دهنده حجم استفاده می‌شود. باید توجه داشت از بهترین جایگزین‌های پلاسما در مواقع خونریزی، آلبومین ۵٪ است که جهت بالا بردن حجم خون مصرف می‌شود و تا حد امکان باید از مصرف پلاسما اعم از پلاسمای فاقد کرایو (CPP) و پلاسمای منجمد تازه (FFP) جلوگیری شود زیرا این فرآورده‌ها نیز مانند خون کامل خطر انتقال انواع بیماری‌ها مانند HCV, HBV, HIV را دارا می‌باشند. مصرف آلبومین ۵٪ بیش از آلبومین ۲۰٪ است و در اکثر موارد، آلبومین ۵٪ می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد زیرا غلظت تقریباً مشابه میزان غلظت آلبومین در پلاسما می‌باشد و غلظت بالاتر آن (۲۰٪) در حالات خاصی مانند سیروز کبدی، سندروم نفروتیک و بیمارانی که به واسطه نارسایی قلبی، نمی‌توانند افزایش بار عروق را تحمل کنند و نوزادان نارس و بیماران دیالیزی که باید آلبومین با میزان سدیم کم بکار ببرند، مصرف می‌گردد. لذا در مواردی که آلبومین ۵٪ می‌تواند مصرف شود بهتر است از آلبومین ۲۰٪ استفاده نشود.

چون ویسکوزیته آلبومین پائین است، محلولی مناسب برای راه‌اندازی پمپ‌های دیالیز و دستگاه‌های قلب مصنوعی محسوب می‌شود. به همین دلیل متخصصین کودکان نیز مصرف آلبومین را به جای پلاسما که در آن فیبرینوژن عامل اصلی افزایش ویسکوزیته است در درمان هیپروویسکوزیتی^{۱۴} ترجیح می‌دهند.

در عرصه تحقیقات نیز آلبومین از جایگاه خاصی برخوردار است و از آن به عنوان مکمل در محیط کشت سلول‌های جانوری، پایدارکننده و بیوکروماتوگرافی استفاده می‌شود. (۱۶) همچنین یکی از موارد مصرف جدیدتر آلبومین استفاده از آن به عنوان پایدارکننده در محصولات فاکتور VIII نو ترکیب و همچنین فاکتورهایی است که با استفاده از آنتی بادی منوکلونال تولید می‌گردند.

مهمترین کاربردهای آلبومین

- ✓ در موارد کاهش حجم خون (Hypovolemia)
- ✓ در موارد کاهش آلبومین خون (Hypoalbuminemia)
- ✓ پیشگیری از افت حجم خون در سیروز (Prevention of Central Volume Depletion in Cirrhotic Ascites)

✓ بیماری ARDS (Adult Respiratory Distress Syndrome)

✓ بیماری OHSS (Ovarian Hyperstimulation Syndrome)

✓ بیماری همولیتیک نوزادان HDN (Hemolytic Disease of the Newborn)

✓ ادم ناشی از نفروز حاد کلیه (Acute Nephrosis)

✓ شوک عفونی (Septic shock)

پلازمایی که جهت ساخت این محصول و ایمونوگلوبولین مصرف می شود شرایط کیفی ساده تری نسبت به پلازمای مورد مصرف در تولید فاکتورهای شکننده و ناپایدار انعقادی دارد. بنابراین می توان پلازمای جدا شده از گلبول قرمز خون های اهدایی را که دارای شرایط لازم برای FFP نباشد برای تولید و ساخت آلبومین استفاده کرد.

یکی از مراحل مهم در تهیه فرآورده های بیولوژیکی دارویی مشتق از پلازمای انسانی اعمال مرحله ویروس زدایی بر روی فرآورده می باشد (۱۷) و روش پاستوریزاسیون موثرترین روش برای ویروس زدایی آلبومین می باشد. آلبومین که از حجم های بالا و از مخلوط کردن تعداد زیادی پلازمای اهدا شده تهیه می شود به صورت محصول نهایی در حرارت ۶۰ درجه سانتی گراد برای ۱۰ ساعت پاستوریزه می گردد و تاریخچه نیم قرن مصرف آن نشانگر ایمنی کامل از نظر آلودگی های ویروسی است.

آلبومین سابقه بسیار خوبی از لحاظ ایمنی و قدرت اثر در میان داروهای بیولوژیک دارد و بدین علت است که در سراسر دنیا تقاضا برای آن وجود دارد. در حال حاضر سالانه بیش از ۲۵۰ تن آلبومین در جهان مصرف می شود. به عنوان مثال در بیمارستان های ژاپن برای هر یک میلیون نفر جمعیت ۱۰۰۰ کیلوگرم آلبومین مصرف می شود. در حالی که این میزان در آلمان و بلژیک ۵۰۰ کیلوگرم و در انگلستان تنها ۱۵۰ تا ۲۰۰ کیلوگرم آلبومین می باشد. اختلافات اقتصادی یکی از عوامل ایجاد چنین تفاوت هایی در الگوی مصرف باشد ولی بی شک عامل اصلی عدم آگاهی از کاربرد صحیح این فرآورده پلازمایی است.

پیش بینی می شود نیاز جهانی به این فرآورده دارویی به طور مداوم رو به افزایش باشد. از این رو، پژوهشگران از دیرباز تاکنون راه کارهای مختلفی را برای تهیه این فرآورده پروتیینی به کار گرفته، یا طراحی و ابداع نموده اند.

فاکتورهای انعقادی

جلوگیری از خون ریزی پس از جراحی و کمک به بهبودی بدن، بستگی به انعقاد خون دارد. انعقاد طبیعی خون باعث محدود شدن کبودی بعد از جراحی شده، سبب توقف خونریزی به داخل ماهیچه‌ها و مفاصل که می‌تواند به دنبال جراحتهای جزئی در اثر فعالیت‌های روزانه زندگی بوجود آید، می‌گردد. انعقاد طبیعی خون بستگی به فعل و انفعالات مواد داخل خون دارد. برخی از این‌ها، فاکتورهای انعقادی نامیده می‌شوند. اگر یکی از این فاکتورهای انعقادی به میزان کافی موجود نباشد ممکن است موجب خونریزی‌های طولانی گردد. یک شخص مبتلا به هموفیلی دارای فاکتور انعقادی کمتر از حد طبیعی می‌باشد.

پیدایش لخته خون، مرکب از فیبرین، پلاکت‌ها و گلبول‌های قرمز حاصل میان‌کنش بیش از ۲۰ گلیکوپروتئین است. هر دو مسیر داخلی و خارجی انعقادی در جهت ایجاد لخته خون فعال می‌شوند و فاکتور VIII یک کوفاکتور^{۱۵} غیرآنزیمی حیاتی و مهم در این مراحل پی‌درپی انعقاد^{۱۶} است. کمبود فاکتورهای دیگر مثل فاکتور VII، IX، X، II و کوفاکتور V نیز می‌تواند عامل خونریزی باشد. با این وجود به غیر از کمبود فاکتورهای VIII و IX سایر این خونریزی‌ها از نظر بالینی از اهمیت کمتری برخوردارند، لذا از نظر تولید صنعتی فاکتورهای انعقادی به‌غیر از این دو فاکتور اهمیت کمتری دارد.

بیشتر اختلالات ارثی انعقادی ناشی از کمبود یک فاکتور انعقادی منفرد می‌باشد که شایع‌ترین آن‌ها کمبودهای فاکتور VIII (هموفیلی A)، فاکتور فون ویلبراند VWF و فاکتور IX (هموفیلی B) است. یک فرد مبتلا به هموفیلی نسبت به یک فرد عادی خون‌ریزی سریع‌تری ندارد اما مدت خون‌ریزی طولانی‌تر است. هموفیلی اغلب منحصر^{۱۷} روی مردان اثر می‌گذارد و در همه جوامع یافت می‌شود. به طور شایع هموفیلی به‌وسیله بانوانی که خودشان مشکل خونریزی ندارند، منتقل می‌گردد. البته در حدود یک سوم افراد مبتلا به هموفیلی هیچ سابقه فامیلی از اختلال را ندارند.

هموفیلی A نوعی بیماری خونریزی دهنده مادرزادی است که حدوداً در ۷ الی ۱۰ مورد از هر ۱۰۰ هزار مولید ذکور مشاهده می‌گردد یا به عبارتی دیگر ۳ تا ۵ مورد در هر ۱۰۰ هزار نفر از کل جمعیت ظاهر می‌شود. این بیماری نیز مانند هموفیلی B از الگوی توارثی مغلوب و وابسته به جنس تبعیت می‌نماید. به‌همین دلیل بیماری در مردان ظاهر می‌شود و زنان می‌توانند ناقل ژن معیوب باشند.

15 Co-factor

16 Coagulation cascade

با شناخت ژن مربوط به VIII:C مشخص شده است که میزان (وقوع) جهش در این ژن بالا بوده بطوری که ۲۰ درصد از موارد بیماری مادرزادی به صورت جهش‌های "نو" (de novo) رخ می‌دهد و این پدیده عامل اصلی ثابت ماندن تعداد (موارد) بیماری علی‌رغم مرگ و میر این بیماران به علت بیماری ایدز و خونریزی‌های شدید می‌باشد. در اکثر بیماران مبتلا به نوع شدید بیماری میزان فاکتور VIII کمتر از ۱ درصد بوده و سابقه هم‌آرتروز و هماتوم و همچنین استعداد خونریزی‌های مغزی و شدت خونریزی بر اثر ضربه‌های خفیف گزارش شده است.

در مواردی نادر کمبود فاکتور VIII انعقادی به صورت اکتسابی دیده می‌شود که در واقع ناشی از اختلال در سیستم ایمنی است. این حالت که علت آن ظهور اتوآنتی‌بادی‌ها در گردش خون می‌باشد در بیماری‌هایی نظیر لوپوس، آرتریت روماتیسم، حاملگی و درمان بامتیل دوبا یا پنی‌سیلین مشاهده شده است.

دسترسی به فاکتورهای انعقادی خالص و تغلیظ شده که از اواسط سال‌های ۱۹۵۰ به بازار عرضه شده و به تدریج در سال‌های اخیر به صورت خالص‌تر و مؤثرتر تهیه گشته، به‌طور محسوسی درمان هموفیلی، آرتریت‌های وابسته به آن و در نهایت روند بیماری را بهبود بخشیده است. مقدار فاکتور VIII تزریقی کاملاً وابسته به شدت بیماری و میزان خونریزی است ولی هدف اصلی، رسیدن به میزان ۳۰ الی ۵۰ درصد فاکتور VIII در گردش خون می‌باشد که به صورت تزریق فاکتور VIII، یک یا دوبار در روز انجام می‌گیرد به نحوی که مقدار فاکتور VIII به مقدار ۲۵-۱۵ درصد در هر بار تزریق افزایش یابد. باید توجه داشت هزینه فاکتورهای انعقادی به تنهایی ۵۰ تا ۸۰ درصد کل هزینه‌های درمانی بیماران مبتلا به هموفیلی را تشکیل می‌دهد.

• شدت هموفیلی

هموفیلی از لحاظ شدت متفاوت است و این تفاوت بستگی به مقدار فاکتور انعقادی موجود در خون دارد. در هموفیلی حاد، سطح FVIII یا FIX کمتر از ۱٪ است. خونریزی داخل مفاصل، ماهیچه‌ها و سایر بافت‌ها با کوچکترین یا حتی بدون هیچ جراحی (خونریزی خودبه‌خودی) و نیز با جراحی یا کشیدن دندان، می‌تواند رخ دهد. هموفیلی حاد نوع A از هر ۱۶۰۰۰ نفر یک نفر را مبتلا می‌کند. در هموفیلی متوسط، سطح فاکتور FVIII یا FIX بین ۱٪ تا ۵٪ می‌باشد. خونریزی به دنبال جراحی‌های کوچک و اعمال جراحی و کشیدن دندان رخ می‌دهد. در هموفیلی خفیف، سطوح فاکتور VIII یا فاکتور IX بین ۶-۵۰٪ است. خونریزی معمولاً

فقط با جراحتهای بزرگ، اعمال جراحی و کشیدن دندان مرتبط است. تشخیص تا زمان بزرگسالی امکان ندارد، مگر هنگامی که خونریزی شدید غیر قابل توضیح به دنبال یکی از این وقایع رخ دهد.

• وراثت هموفیلی

هموفیلی یک اختلال ارثی انعقاد خون است. ژنی که که کنترل کننده تولید فاکتورهای انعقادی VIII و IX می باشد روی کروموزوم جنسی X حمل می شود. در هر بارداری که یک زن حامل ژن هموفیلی باشد، احتمال ۱ به ۲ وجود دارد که ژن هموفیلی انتقال پیدا کند و زمانی که این اتفاق رخ دهد فرزند پسر هموفیل و فرزند دختر حامل ژن هموفیلی خواهد بود.

✓ هر پسر ۵۰٪ شانس ابتلا به هموفیلی دارد.

✓ هر دختر ۵۰٪ شانس ناقل بودن دارد.

اگر پدر هموفیل باشد همه دختران او ناقل خواهند بود و هیچ یک از پسرها هموفیل نخواهند بود.

✓ همه پسرها سالم خواهند بود.

✓ همه دخترها ناقل خواهند بود.

اگر مردی که هموفیل است با زنی که ناقل است ازدواج کند احتمال این که دختری هموفیل داشته باشد وجود دارد.

• مدیریت هموفیلی

هموفیلی یک عارضه برای تمام طول عمر محسوب می شود که در حال حاضر هیچ درمانی برای آن وجود ندارد. هرچند با پیشرفت فراگیر مراقبت و تمهیداتی که در زمینه تهیه فاکتورهای انعقادی صورت گرفته، حتی برای افراد مبتلا به هموفیلی حاد این امکان وجود دارد که خونریزی را کنترل کرده و یک زندگی نسبتاً طبیعی داشته باشند. برای خونریزیهای داخل مفاصل و ماهیچهها و برای همه نوع جراحی از جمله ختنه و کشیدن دندان، نیاز به درمان است. همچنین ممکن است برای خونریزیهای داخلی سایر بافتها و بعد از تصادفها و جراحیها هم درمان لازم باشد.

مدیریت هموفیلی نیازمند توجه ویژه از طرف متولیان امر بهداشت و درمان کشورها است. داروهای ضد هموفیلی گران بوده و بسته به شدت و نوع رژیم درمانی ممکن است ۴۵ تا ۹۳٪ هزینه درمانی را شامل شود. ابتلا توام به عفونت های HIV و HCV با افزایش

مرگ و میر و بالا رفتن مصرف فاکتورهای انعقادی در بیماران هموفیل همراه است. (۱۸)

در حال حاضر دو روند اصلی برای درمان جایگزینی در بیماران هموفیل وجود دارد. در روش درمانی "هنگام نیاز"^{۱۷} فاکتورهای انعقادی برای توقف خونریزی در هنگام نیاز مورد استفاده قرار می گیرند. اما در روش درمانی "درمان پیشگیری کننده"^{۱۸}، تجویز منظم فاکتورهای انعقادی برای پیشگیری از وقوع خونریزی صورت می گیرد. درمان پیشگیری کننده گران تر از درمان هنگام نیاز است، اما باید توجه داشت در نوع دوم درمان، خونریزی قبل از این که درمانی صورت بگیرد رخ می دهد.

• جایگزینی فاکتور

هموفیلی بوسیله جایگزین کردن فاکتور ناقص انعقادی خون با محصولی که از پلاسمای اهداکننده انسانی و یا به صورت مصنوعی توسط مهندسی ژنتیک به دست آمده است، درمان می شود. درمان باید بلافاصله پس از شروع خونریزی انجام شود. درد، اغلب پس از چند دقیقه تسکین می یابد. در بعضی موقعیت ها ممکن است نیاز به دوزهای مجدد باشد، مثلاً اگر درد و تورم مفصل یا عضله ادامه پیدا کند و یا در زخم های دهان که خونریزی اغلب به مدت چند ساعت متوقف شده و سپس دوباره شروع می شود، وقتی که بخیه وجود دارد، یا پس از جراحی سر، نیاز به دوزهای مجدد است.

برنامه های تزریق خانگی به صورت گسترده در بسیاری از کشورها استفاده می شود. در این برنامه ها که تحت نظارت متخصصین و پرستاران بیمارستان ها است، به والدین یا بیماران آموزش داده می شود تا فاکتورهای مورد نیاز را خودشان تزریق کنند. این عمل، درمان زود هنگام را تضمین کرده و به بیمار و خانواده استقلال می دهد. این کار همچنین باعث کاهش رفت و آمد بیمار به بیمارستان و در نتیجه کاهش بار مالی، احساسی و اجتماعی شخص مبتلا به هموفیلی، خانواده او و جامعه می شود.

فراهم سازی درمان سالم و موثر برای اختلالات انعقادی، یکی از اصلی ترین فعالیت های شرکت پالایش کننده پلازما است. مهمترین داروهای انعقادی مشتق از پلازما در سرتاسر دنیا، فاکتور هشت انعقادی (FVIII)، فاکتور نه انعقادی (FIX)، فاکتور فون ویلبراند، فیبرینوژن، چسب فیبرین (حاوی کنسانتره های ترومبین خالص و غنی از فیبرینوژن)، کنسانتره کمپلکس پروترومبین (PCC)، مخلوط فاکتورهای انعقادی وابسته به ویتامین K شامل فاکتورهای انعقادی II، VII، IX و X، پروتئین C و پروتئین S، فاکتور XIII، کنسانتره فاکتور XI و کنسانتره های اختصاصی سرشار از فاکتور VII که حاوی مقادیر کاهش یافته از سایر فاکتورهای انعقادی

وابسته به ویتامین K هستند، می باشند. کنسانتره‌های ترومبین انسانی تهیه شده توسط فعال کردن کنسانتره کمپلکس پروترومبین در بازار قابل دسترس بوده و به عنوان جزئی از چسب فیرینی^{۱۹} مورد استفاده قرار می گیرد.

تشخیص کمبود اختصاصی یک فاکتور معین و اختصاصی بهترین راه است که اجازه انتخاب مناسب‌ترین محصول را به جای استفاده از کرایوپرسی پیتیت یا کنسانتره فاکتور VIII می دهد.

• گرایش‌های آینده

پیشگیری و درمان در منزل برای بیماران یکی از گرایش‌های عمده است، استفاده پیشگیرانه از محصولات پلاسمایی در درمان با فاکتور VIII، فاکتور IX، کنسانتره فاکتور فون ویلبراند و ایمونوگلوبولین زیرجلدی در حال افزایش است. درمان در منزل با این محصولات بیمار را قادر می سازد که مستقل تر باشند و بهبود کیفیت زندگی در حال افزایش است. مطالعات نشان داده اند که درمان در منزل دارای اثر مثبت‌تری به بستری در بیمارستان دارد، غیبت کمتر در مدرسه و محل کار، و ناتوانی کمتر ناشی از آن موثرتر است.

• افزایش نیمه عمر در گردش خون

با استفاده از محصولات جدید و مفید فاکتورهای انعقادی پیشرفته در مطالعات انجام شده بر روی افزایش زمان اقامت مولکول در بدن بیمار، بیمار را به کاهش تعداد تزریقات در هفته قادر ساخته که چالش عمده افزایش نیمه عمر فاکتور VIII در گردش خون است. برای یک فرد مبتلا به هموفیلی، این موضوع می تواند این مفهوم را برساند که تعداد تزریقات را از سه به دو و یا حتی یک بار یک هفته کاهش داده است.

یک روش، تغییر پروتئین فاکتور VIII در محل‌های اتصال آن به گیرنده‌های سلولی است که معمولاً به حذف فاکتور VIII از گردش منجر می شود. مطالعاتی در حال انجام است که در آن گیرنده‌های درگیر در این فرآیند و از جمله بهبود مولکول فاکتور VIII باید طراحی شود. یکی دیگر از استراتژی‌ها در استفاده از فن آوری لیپوزوم PEGylated برای به دست آوردن زمان بقای طولانی مدت برای پروتئین فاکتور VIII می باشد. (۱۹) آزمایش‌های بالینی در حال انجام است و در صورت موفقیت، به معنی یک بهبود عمده برای بیماران و خانواده‌های‌شان این است که عمرشان طولانی تر خواهد شد.

یکی دیگر از حوزه پژوهش، با هدف دستیابی به فعالیت‌های بیشتر پروتئین فاکتور VIII می باشد. قوی‌تر شدن پروتئین فاکتور VIII ممکن است منجر به استفاده در یک دوز درمانی پایین‌تر بشود و به این ترتیب ممکن است در هزینه صرفه جویی گردد.

اگر میزان فعالیت اختصاصی^{۲۰} فاکتور هشت در پلازما یک واحد باشد، این فعالیت در کرایو ۳۰ واحد خواهد بود. با وجود آن که مصرف پلازما یا کرایوی لیوفیلیزه با کیفیت مناسب به هنگام خونریزی‌های حاد می‌تواند میزان فاکتور هشت را به اندازه‌ای افزایش دهد که خونریزی شدید یا خونریزی در هنگام اعمال جراحی را مهار نماید ولی این عمل به هیچ وجه از نظر درمانی کافی نخواهد بود. به همین دلیل در کشورهای پیشرفته این فرآورده‌ها علی‌رغم هزینه ناچیزشان با تولیدات صنعتی جدید که با استفاده از روش‌های ویروس زدایی از ایمنی بیشتری نیز برخوردارند کاملاً جایگزین شده‌اند. این مشتقات ممکن است دارای درجه خلوص متوسط یا بالا باشند که میزان خلوص آن‌ها از ۱۰ تا ۵۰ واحد در هر میلی گرم پروتئین در مورد داروهای با درجه خلوص بالا متغیر است. داروهای با درجه خلوص بالا را با استفاده از روش‌های کروماتوگرافی تعویض یونی تهیه می‌نمایند که در آن قسمت آنتی ژنیک فاکتور VIII و فاکتور فون ویلبراند به صورت یک مجموعه، خالص می‌گردند. در روش‌هایی که از آنتی‌بادی‌های منوکلونال برای خالص‌سازی روی ستون‌های کروماتوگرافی میل ترکیبی^{۲۱} استفاده می‌شود فعالیت فاکتور VIII به میزان ۲۰۰۰ واحد در هر میلی گرم پروتئین افزایش می‌یابد.

به نظر می‌رسد که فاکتور هشت نو ترکیب که در رده‌های سلولی مختلف با روش‌های بیوتکنولوژی تولید می‌شود بسیاری از مسائل مربوط به فرآورده‌های پلازما را حل کند. این نوع محصولات منبع فراوان و نامحدودی جهت تولید فاکتور خالص است که خطر انتقال آلودگی‌های ویروسی را نیز به همراه ندارد، در حالی که در مورد فرآورده‌های پلازما خطر آلودگی احتمالی یک اهدا کننده از میان ۲۵۰۰۰ پلاسمای اهدایی جهت تولید ممکن است وجود داشته باشد. مطالعات بالینی وسیعی بر روی این محصولات انجام گرفته است که نتایج آن نشان‌گر مؤثر بودن و داشتن نیمه عمر طبیعی در بدن بیماران می‌باشد. تنها مشکل این داروهای نو ترکیب جدید در مقایسه با تولیدات پلاسمایی، احتمال بیشتر ظهور آنتی بادی‌های علیه فاکتور VIII توسط آن‌ها است. چنین محصولات بیوتکنولوژی هنوز هزینه بسیار بالایی را در بر دارند. علی‌رغم آن که به نظر می‌رسد در کشورهای پیشرفته جهان این نوع محصولات بازار اصلی را به خود اختصاص دهند باید به خاطر داشت که سلامت داروهای حاصل از پلازما که امروزه با روش‌های ویروس‌زدایی

20 Specific activity

21 Affinity chromatography

متعدد احتمال آلودگی در آن‌ها بسیار کاهش یافته، سیاست‌گزاران را حتی در پیشرفته‌ترین کشورها متوجه این امر می‌نماید که دسترسی کافی به داروی مناسب نباید تحت‌الشعاع هزینه‌های بی‌رویه فن‌آوری بسیار پیشرفته‌ای قرار گیرد که صرفه اقتصادی آن‌ها هنوز به اثبات نرسیده است.

افزایش مصرف ناشی از کاربرد روش‌های جدید درمان و پیشگیری برای بیماران هموفیل، فاکتور VIII را به‌صورت محصولی مهم و کلیدی در مراکز پالایش پلاسما در کشورهای پیشرفته تبدیل نموده است. این مسایل میزان نیاز به پلاسمای اولیه را جهت پالایش پلاسما به مراتب افزایش داده به طوری که امروزه برای تهیه فاکتور VIII لازم تقریباً ۲۰ میلیون لیتر پلاسما در سال مورد نیاز است. این مقدار پلاسما به مراتب بیشتر از نیاز جهانی به پلاسما برای تولید آلبومین، فاکتور IX و ایمونوگلوبولین است.

فاکتور فون ویل براند

چون در فاکتور VIII تخلیص شده از طریق کروماتوگرافی، تمام و یا قسمتی از VWF حذف می‌شود، محصولات فاکتور VIII موثر در درمان بیماری فون ویل براند (VWD) خلوص پایینی دارند (خلوص متوسط) که طی مراحل رسوب دادن از رسوب کرایو تهیه می‌گردد و استخراج VWF و فاکتور VIII به نسبت بیش از ۱ می‌باشد. خلوص کم و مواد پروتئینی زیاد این محصولات از نظر کلینیکی، انتخاب روش غیر فعال سازی ویروسی را به پاستوریزاسیون و یا حرارت خشک ۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۲ ساعت محدود می‌کند. یک محصول VWF با خلوص بالا، به طور گسترده فاکتور VIII را خالی می‌کند بنابر این برای درمان بیماری ون ویل براند اختصاصی می‌باشد. این ماده به وسیله یک کروماتوگرافی سه مرحله ای (همراه شده با فرآیند تخلیص فاکتور VIII و فیبرینوژن) با استفاده از دو مرحله تعویض یونی و پولیش ژلاتین غیر متحرک (برای حذف فیبرونکتین) تهیه می‌شود. (۲۰) کاهش ویروسی به وسیله استفاده از فرآیند ویروس‌زدایی حلال-شوینده (SD)، نانوفیلتراسیون ۳۵ نانومتر و حرارت خشک نهایی در ۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۲ ساعت، صورت می‌گیرد.

فاکتور IX انعقادی

کمبود مادرزادی فاکتور IX انعقادی عامل بیماری هموفیلی B یا بیماری کریسمس^{۲۲} است که از نظر علائم بالینی از هموفیلی A قابل تمایز نیست. الگوی توارثی این بیماری نیز همانند هموفیلی A به صورت مغلوب و وابسته به جنس می باشد ولی فراوانی آن بسیار کمتر از هموفیلی A است، به طوری که هموفیلی A، ۸۵ درصد و هموفیلی B، ۱۵ درصد از موارد بیماری را تشکیل می دهد. همچنین مشکلات تهیه مقدار کافی دارو برای درمان این گروه بیماران بسیار کمتر از بیماران مبتلا به هموفیلی A است.

فاکتور IX یک گلیکوپروتئین وابسته ویتامین K تک زنجیره ای با وزن مولکولی حدود ۶۸ کیلو دالتون می باشد که در کبد سنتز می گردد. در مسیر انعقادی فاکتور IX بوسیله فاکتور Xla در مسیر داخلی فعال می گردد. فاکتور IX فعال به همراه فاکتور VIII فعال، فسفولیپیدها و Ca^{2+} پروترومبین را به ترومبین فعال تبدیل می نماید. سپس ترومبین فیبرینوژن را به فیبرین تبدیل می کند که باعث ایجاد لخته می گردد. فاکتور IX در درمان جانشینی اختصاصی در هموفیلی نوع B یا در درمان بازدارنده های فاکتور IX استفاده می شود.

فاکتور IX با دیگر پروتئین های وابسته ویتامین K در خواص شیمیایی شریک می باشد. بیشترین فاکتور IX غلیظ توسط کلسیم فسفات و جذب با تبادل کننده های آنیونی تهیه می شود که شامل فاکتورهای انعقادی دیگر II، VII و X می شود که از این فرآورده تحت عنوان کمپلکس پروترومبین یاد می نمایند که در درمان کمبود کلی یا جزئی فاکتور II، VII و X به علت کمبود ویتامین K یا بیماری مادرزادی می تواند مفید واقع گردد.

کمپلکس پروترومبین متراکم (PPSB) علاوه بر هموفیلی نوع B در درمان بیماران هموفیل A که دارای مقادیر زیاد مهارکننده های فاکتور VIII می باشند نیز مصرف می شود. این دارو در درمان بیمارانی که دچار انواع اکتسابی کمبود فاکتورهای وابسته به ویتامین K شده اند، افرادی که به علت استفاده از مقادیر زیاد وارفارین^{۲۳} دچار کمبود فاکتورهای انعقادی گشته اند، بیماران دچار سوء جذب گوارشی و بیماران مزمن کبدی نیز مصرف می شود و مؤثر است.

محصولات با خلوص بالای فاکتور IX که در اواخر دهه ۱۹۸۹ ابداع شد (۲۱) باعث گردید تا احتمال رخ داد ترومبوز آمبولیسم در مقایسه با کمپلکس پروترومبین در بیماران هموفیلی B کاهش یابد. فاکتور IX از تخلیص کمپلکس پروترومبین با استفاده از

22 Christmas Disease

23 Warfarin

کروماتوگرافی تغییر یونی به همراه افینیتی شلات فلزی و هپارین ساکن و یا آنتی‌بادی مونوکلونال به دست می‌آید. با این عملیات محصول فاکتور IX با فعالیت اختصاصی بین ۱۰۰ الی ۱۵۰ واحد بین المللی در میلی گرم و بازده ۲۰۰ الی ۳۰۰ واحد بین المللی در لیتر پلازما تولید می‌شود.

فیبرینوژن

پنج فرآورده مجوزدار استفاده از فیبرینوژن در درمان فیبرینوژنمی و یا کمبود آن وجود دارند. (۲۲) محصولات تهیه شده به روش قدیمی با استفاده از رسوبدهی چند مرحله‌ای پلازما و کرایوپرسی پیت با استفاده از اتانول و گلايسين انجام می‌شود در صورتی که محصولات جدید دیگر به وسیله کروماتوگرافی تخلیص می‌گردند. کاهش ویروسی توسط روش‌های SD، که اغلب به‌وسیله نانوفیلتراسیون ۳۵ نانومتر و یا حرارت خشک‌نمایی تکمیل می‌شود، حاصل می‌گردد. پاستوریزاسیون تک مرحله‌ای در ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ ساعت برای محصول به کار می‌رود.

چسب‌های فیبرینی

چسب‌های فیبرینی غنی از فیبرینوژن و ترومبین‌های خالص شده می‌باشند. وقتی دو ماده با هم مخلوط می‌شوند، یک چسب لخته قوی، بند آورنده خون، پوشاننده، التیام دهنده فوری و یا در عرض چند ثانیه بوجود می‌آورد که کار برد آن به صورت موضعی در عملیات جراحی می‌باشد. فیبرینوژن، به روش‌های رسوبدهی از رسوب کرایو و یا فراکشن I کهن به دست می‌آید. فراکشن I ممکن است حاوی فیبرونکتین، VWF و یا فاکتور XIII باشد که اعمال فیزیولوژیکی دیگری را ایجاد کنند. (۲۳) غیرفعال‌سازی ویروسی در فراکشن‌های فیبرینوژن، به وسیله SD، پاستوریزاسیون، روش بخار گرم و یا نانوفیلتراسیون انجام می‌گیرد. محصول فیبرینوژن ۸۰ گرم در لیتر بوده و ممکن است در حضور یک ماده ضد فیبرینولیتیک، فرموله شود.

کمپلکس پروترومبین

محصول کمپلکس پروترومبین (PCC) از مخلوط نمودن فاکتورهای انعقادی وابسته به ویتامین K که در آن فاکتور نه، فاکتور دو، فاکتور ده و پروتئین‌های C و S با فعالیت اختصاصی پایین بین ۰/۵ و ۲ واحد بین المللی در میلی گرم، به دست می‌آید. (۲۴) تعداد کمی از فرآورده‌های دارای فاکتور هفت هستند که میزان آن کمتر از فاکتور نه می‌باشد. روش تولید بر اساس روش ابداعی دهه ۱۹۶۰ بوده که در آن با استفاده از جذب دی اتیلن آمینو اتیل (DEAE) سفادکس و یا (DEAE) سلولزی، پلاسمای فاقد کرایو استفاده می‌شود. (۲۵)

فاکتور VII انعقادی

سه محصول خاص از فاکتور غنی فاکتور VII و میزان فاکتورهای دیگر انعقادی کاهش یافته وابسته به ویتامین K، اخیراً برای کنترل خونریزی در بیماران دارای کمبود این مواد، مجوز استفاده دریافت کرده‌اند. فرآیند ساخت شامل کروماتوگرافی تغییر یونی و یا آلومینیوم هیدروکسید جذبی، به دنبال روشی شبیه به روش PCC و فاکتور IX می‌باشد غیرفعال‌سازی ویروس توسط روش SD، دمای بخار و یا گرمای خشک حاصل می‌شود.

فاکتور VII انعقادی فعال

در ژاپن برای تولید انبوه فاکتور VII فعال مشتق از پلازما روش جدیدی ابداع شده است. (۲۶) در این روش، فاکتور VII به وسیله کروماتوگرافی تعویض یونی و ایمونوافیتی تخلیص می‌شود و به وسیله خود فعال‌سازی در رزین تعویض یونی و انکوباسیون در حضور یون کلسیم به مدت ۱۸ ساعت در ۱۰ درجه سانتی‌گراد به فاکتور VII فعال شده تبدیل می‌گردد. این محصول تهیه شده به وسیله نانوفیلتراسیون و حرارت خشک ویروس زدایی شده و برای درمان بیماران هموفیلی تولید کننده آنتی‌بادی بر علیه فاکتور هشت و یا فاکتور نه به کار می‌رود.

فاکتور XI انعقادی

اخیراً دو محصول فاکتور XI برای بیماران دارای نقص این فاکتور مورد استفاده قرار می‌گیرد. یکی از آن‌ها خلوص پایین داشته که به وسیله کروماتوگرافی از پلازما فاقد کرایو بر روی سلولز DEAE و هپارین ساکن تهیه می‌شود. بعد از فریزدرایرینگ (لیوفیلیزاسیون)، محصول به وسیله حرارت خشک غیرفعال‌سازی و ویروسی می‌گردد. در محصول دیگر فاکتور XI از فیلتر گذرانده شده و سپس توسط کروماتوگرافی تعویض یونی تخلیص می‌شود. این محصول به وسیله SD و فیلتراسیون ۱۵ نانومتر و ویروس زدایی می‌گردد.

فاکتور XIII انعقادی

این فاکتور یک ترانس گلوتامیناز است که با اتصال به پلیمر شل فیبرین، مرحله نهایی آبشار انعقادی را کاتالیز می‌کند و آن را به ساختاری محکم تبدیل می‌نماید. نسل اولیه فاکتور XIII برای درمان بیماران دارای کمبود فاکتور XIII از جفت استخراج شده، اما دو محصول از پلازما به دست آمده است. یکی از فراکشن الکل سرد از مایع رسوب کرایو تخلیص می‌شود که به وسیله سیترات سدیم رسوب داده شده و به وسیله حرارت فیبرینوژن آن خارج می‌گردد. محصول در محلول سوربیتول پاستوریزه شده و جهت خارج کردن سوربیتول از محیط، اولترافیلتر می‌شود، با بنتونیت جذب می‌گردد و سپس لیوفیلیزه می‌گردد. محصول دیگر از مراحل رسوب دهی به دست آمده و پاستوریزه می‌گردد. همچنین فاکتور XIII ترکیبی از چسب‌های فیبرینی می‌باشد. حضور فاکتور XIII به تشکیل باندهای متقاطع زنجیره‌های گامای فیبرین و تحکیم آن‌ها کمک می‌کند و به احتمال زیاد در بهبود وضعیت انعقاد موثر است. (۲۷)

فرآورده IgG

ایمونوگلوبولین‌ها ترکیبات طبیعی بدن انسان هستند. IgG سالم و دست نخورده یک نقش محوری در دفاع سیستم ایمنی بدن ایفا می‌کند که عمدتاً در پاسخ آنتی‌بادی ثانویه است. طیف آنتی‌بادی در پلازما نشان دهنده وضعیت ایمنی در یک لحظه معین، به عنوان یک نتیجه از عفونت‌های طبیعی و اثرات واکسن است.

ایمونوگلوبولین‌ها یا گاماگلوبولین‌ها نقش کلیدی دفاع در مقابل بیماری‌های عفونی را دارند. ایمونوگلوبولین یک واژه عمومی برای همه آنتی بادی‌ها در خون است. آن‌ها خودشان را به پاتوژن‌ها می‌چسبانند، به عنوان مثال به باکتری‌ها می‌چسبند. این سبب می‌شود تا دیگر سلول‌ها یا مولکول‌های سیستم ایمنی، متجاوزین را کشته یا حذف کنند. بیمارانی که قادر نیستند خودشان ایمونوگلوبولین کافی تولید کنند سیستم ایمنی به خطر افتاده دارند و در نتیجه سیستم دفاعی آن‌ها در برابر پاتوژن‌ها ضعیف است. ضعف ایمنی می‌تواند مادرزادی یا اکتسابی باشد، به عنوان مثال بیماری‌های خونی یا پیوند مغز استخوان. این بیماران از عفونت‌های مکرر آسیب می‌بینند. لذا تجویز منظم ایمونوگلوبولین، معمولاً هر سه تا چهار هفته لازم است تا از این مسئله جلوگیری شود. بیماران با فقر ایمنی مادرزادی (اولیه) باید توسط ایمونوگلوبولین در تمام عمر درمان شوند. حتی بیمارانی که کمبود ایمونوگلوبولین هم ندارند می‌توانند از مزایای درمان با آن بهره ببرند. انواع بیماری‌هایی که همراه با عکس العمل‌های قطعی ایمنولوژیکی و التهابی هستند می‌توانند با تزریق وریدی ایمونوگلوبولین درمان شوند. این ایمونوگلوبولین‌ها به طور وسیعی به صورت وریدی جهت درمان بیماری‌های خونی و تعدادی از بیماری‌های عصبی که می‌توانند توسط واکنش‌های خود ایمنی ایجاد شده باشند، استفاده می‌گردد. ایمونوگلوبولین‌ها فرآورده‌هایی درمانی هستند که در واقع متشکل از مخلوطی از IgG است که انواع اولیه آن بصورت تزریق عضلانی بوده و اخیراً پس از حل مشکلات مربوط به ترکیبات ضد کمپلمان در این فرآورده نوع تزریق وریدی آن نیز ساخته شده است که خواهان بیشتری نیز دارد. هر دو نوع محصول وریدی و عضلانی به صورت پلی‌والان (وسیع الطیف) و اختصاصی وجود دارند. با وجود احتمال کاهش میزان مصرف آلبومین در کشورهایی که مصرف آن تاکنون بالا بوده است، پیش بینی می‌شود میزان مصرف ایمونوگلوبولین‌های وریدی به علت کاربرد آن‌ها در درمان‌های پیشگیرانه با تغییر در ایمنی^{۲۴} افزایش خواهد یافت. حداقل استانداردهای مورد قبول سازمان بهداشت جهانی (WHO) در مورد ایمونوگلوبولین‌ها به شرح زیر است:

✓ باید از مجموعه‌ای شامل بیش از ۱۰۰۰ واحد اهدایی تهیه شده باشد.

✓ حاوی بیش از ۹۰٪ ملکول سالم ایمونوگلوبولین و کمترین مقدار ممکن از IgA باشد.

✓ در حد امکان عاری از ملکول‌های شکسته^{۲۵} و انواع ملکول‌های مجتمع^{۲۶} باشد.

✓ حداقل تغییرات بیوشیمیایی را داشته باشد.

24 Prophylactic Immunomodulation

25 fragments

26 aggregate

✓ دارای فعالیت‌های نرمال ناحیه c، اپسونیزاسیون، ثبوت کمپلمان^{۲۷} و سایر فعالیت‌های بیولوژیک ملکول IgG باشد.

✓ حاوی تمامی زیرگروه‌های IgG طبیعی باشد.

✓ عاری از پروتئین کیناز^{۲۸} های وابسته به c-AMP، کینین‌ها و پلاسمیوژن‌ها باشد.

✓ حاوی میزان معینی آنتی‌بادی علیه حداقل یک ویروس و یک باکتری باشد.

✓ از نظر انتقال آلودگی‌های ویروسی ایمن باشد.

✓ برای بیمار قابل تحمل بوده، حساسیت زان باشد.

حصول پلی‌والان IgG، برای مصارف داخل وریدی و یا داخل عضلانی از فراکشن II روند پالایش پلاسما کهن از پلاسمای فاقد کرایو در اتانول سرد به غلظت ۲۵٪ حاصل می‌شود. محصولات IgG از رسوبات اتانولی فراکشن‌های بالا دستی، مثل محلول رویی فراکشن III و یا رسوب فراکشن‌های II+III به دست می‌آید. درمورد برخی از فرآورده‌ها از روش پالایش ترکیبی، اتانل و کروماتوگرافی برای تخلیص استفاده می‌گردد. درجه خلوص اکثر فرآورده‌های IgG بیش از ۹۸ درصد است. گرچه در برخی از فرآیندهای تولید می‌توان مقدار ۲/۵ تا ۳ گرم IgG را از هر لیتر پلاسما تهیه کرد، روش‌های اخیر با کاربرد وسایل و فن‌آوری نوین امکان رسیدن به ۳/۵ تا ۵/۵ گرم IgG را از هر لیتر پلاسما مهیا کرده است.

اکثر روش‌های غیرفعال‌سازی ویروسی فعلی، انکوباسیون pH پایین، پاستوریزاسیون یا SD - حلال شوینده می‌باشند. تیمار اسید کاپریلیک، اخیراً در تولید محصولات IgG انسانی معرفی شده است که یک فرآیند غیرفعال‌سازی ویروسی IgG می‌باشد. روش اختصاصی حذف ویروس، به وسیله نانوفیلتراسیون ۱۵ الی ۳۵ نانومتر معمولاً جهت افزایش اطمینان از حذف ویروس‌های فاقد پوشش به کار می‌رود، مخصوصاً وقتی تیمار کننده‌های غیر فعال ویروسی، ویروس‌های دارای پوشش لیپیدی را هدف قرار می‌دهند. از فرآوری IgG با روش پالایش قدیمی اتانول همراه با سانتریفیوژ کردن، مقدار ۲/۷ الی ۳/۲ گرم در لیتر IgG حاصل می‌شود.

فیلتراسیون ضخیم^{۲۹} و یا تخلیص با کروماتوگرافی فراکشن‌های بالا دستی میزان محصول را تا ۳/۵ الی ۵/۵ گرم در لیتر و یا بیشتر بهبود بخشیده است. روش‌های کروماتوگرافی کلی برای تولید محصولات IgG هایپرایمیون^{۳۰} به طور فزاینده ای به کار می‌روند. اصولاً فرآیندهای تولید ایمونوگلوبولین‌های اختصاصی تفاوتی با ایمونوگلوبولین‌های عضلانی یا وریدی وسیع الطیف ندارد و اختلاف تنها در کمتر بودن حجم پلاسمای اولیه به علت دسترسی کمتر به پلاسماهای اختصاصی هایپرایمیون است. بیمارانی که قادر نیستند خودشان ایمونوگلوبولین کافی تولید کنند سیستم ایمنی به خطر افتاده دارند و در نتیجه سیستم دفاعی آن‌ها در برابر پاتوژن‌ها ضعیف است. ضعف ایمنی می‌تواند مادرزادی یا اکتسابی باشد، به‌عنوان مثال بیماری‌های خونی یا پیوند مغز استخوان. این بیماران از عفونت‌های مکرر آسیب می‌بینند. لذا تجویز منظم ایمونوگلوبولین، معمولاً^{۳۱} هر سه تا چهار هفته لازم است تا از این مسئله جلوگیری شود. بیماران با فقر ایمنی مادرزادی (اولیه) باید توسط ایمونوگلوبولین در تمام عمر درمان شوند. ایمونوگلوبولین تولید شده هم به صورت IV (وریدی) و هم به صورت (IM) عضلانی است. حتی بیمارانی که کمبود ایمونوگلوبولین هم ندارند می‌توانند از مزایای درمان با آن بهره ببرند. انواع بیماری‌هایی که همراه با عکس‌العمل‌های قطعی ایمنولوژیکی و التهابی هستند می‌توانند با تزریق وریدی ایمونوگلوبولین درمان شوند. این ایمونوگلوبولین‌ها به طور وسیعی به صورت وریدی جهت درمان بیماری‌های خونی و تعدادی از بیماری‌های عصبی که می‌توانند توسط واکنش‌های خود ایمنی ایجاد شده باشند، استفاده گردد.

هایپر ایمیون گلوبولین‌ها یا گلبولین‌های اختصاصی

ایمونوگلوبولین‌های اختصاصی یا هایپرایمیون جهت جلوگیری یا درمان برخی از بیماری‌ها موجود است. این محصول از پلاسمای اهداکنندگان تهیه می‌گردد که دارای تیتراژی بالایی از آنتی‌بادی‌های معینی هستند. معمولاً این اهداکنندگان قادرند که پلاسمای خود را یک یا دو بار در هفته به‌صورت پلاسمافریز اهدا نموده بدون آن در عارضه‌ای برای آن‌ها به‌جا گذارد.

این فرآورده‌ها، IgG هایی هستند که از اشخاصی که قبلاً به عفونتی مبتلا شده‌اند و یا افرادی که سیستم ایمنی آن‌ها بر علیه یک عامل بیماری‌زا فعال و تحریک شده است، به دست می‌آید. در پلاسمای این اشخاص آنتی‌بادی بر علیه یک عامل بیماری‌زای

خاص مثل ویروس هپاتیت B به مقدار زیاد وجود دارد. مصرف این داروها محدود است، ولی ارزش اقتصادی بالایی دارند. داروهای مهم این دسته داروها عبارتند از:

- ✓ Anti RhD
- ✓ ایمونوگلوبولین ضد کزاز عضلانی
- ✓ ایمونوگلوبولین ضد کزاز وریدی
- ✓ ایمونوگلوبولین ضد هاری
- ✓ ایمونوگلوبولین ضد هپاتیت B

ایمونوگلوبولین‌های ضد Rh که در پیش‌گیری از بیماری همولیتیک نوزادان و سایر شرایطی که موجب حساسیت در سیستم Rhesus می‌گردد کاربرد فراوان دارد، به نظر می‌رسد که از میان گاماگلوبولین‌های اختصاصی، این محصول اولین دارویی باشد که با نوع تهیه شده از طریق بیوتکنولوژی جایگزین گردد.

ایمونوگلوبولین ضد هپاتیت B که در مواقع آلودگی تصادفی با ویروس هپاتیت B مانند ورود اتفاقی سوزن آلوده به بدن^{۳۱} استفاده می‌شود دارای مصارف دیگر از جمله در جلوگیری از انتقال آلودگی مادر به نوزاد و جلوگیری از آلودگی مجدد در پیوند کبدی دارد. ایمونوگلوبولین ضد آبله مرغان^{۳۲} در پیشگیری از آلودگی افراد در معرض خطر، مثل نوزادان یا بیمارانی مصرف می‌شود که تحت درمان با داروهای سرکوب‌گر سیستم ایمنی^{۳۳} یا شیمی درمانی باشند.

از مصارف جدید گاماگلوبولین وریدی استفاده از آن در درمان بیماری‌های التهابی و خود ایمنی می‌باشد. اولین مشاهدات در دهه ۱۹۸۰ حاکی از موفقیت آمیز بودن تزریق وریدی مقادیر زیاد گاما گلوبولین در درمان^{۳۴} ITP به ویژه در کودکان بوده است و از آن زمان مطالعات و بررسی‌های بالینی متعددی در جهت افزایش کاربرد این دارو انجام گرفته است. در ITP اپسونیزه شدن پلاکت با اتوانتی‌بادی‌ها و حذف سریع این اجزاء سلولی بوسیله طحال باعث کاهش شدید آن‌ها می‌گردد. در برخی از انواع این بیماری گلیکوپروتئین‌های سطحی GPIIb/IIIa GPIb/IX آنتی ژن هدف برای تولید اتوانتی‌بادی هستند و در این موارد علاوه بر کاهش تعداد پلاکت به دلیل نقص در فعالیت پلاکت‌های موجود خونریزی شدیدتری بروز می‌نماید. این بیماری در کودکان معمولاً به دنبال

31 needle-stick injury

32 Varicella-Zoster

33 Immune Suppressors

34 Idiopathic Thrombocytopenic Purpura

عفونت حاد مجاری تنفسی بروز می نماید. در حالی که در بزرگسالان چنین ارتباطی دیده نمی شود. در ۸۰٪ موارد بیماری در کودکان عارضه حاد بود و خود به خود مهار می شود^{۳۵} در حالی که در بزرگسالان این حالت تنها در ۱۰٪ تا ۲۰٪ موارد مشاهده می گردد. تزریق IVIG در بیماران با شمارش پلاکت کمتر از 30000/dl که دچار خونریزی شدید می گردند و در معرض خطر می باشند قبل از عمل جراحی پیشنهاد می شود.

بعضی از بیماری هایی که مصرف IVIG در آنها موفقیت آمیز بوده عبارتند از موارد هموفیلی ناشی از وجود آنتی بادی های خود ایمنی، سندرم گیلن باره، بیماری کلازاکی^{۳۶}، پلی میوزیت و موارد دیگر.

بسیاری از محصولات ایمونوگلوبولین تزریق داخل وریدی حاوی مقدار ناچیزی از IgA و IgM می باشند. اگر چه IgA ممکن است واکنش آنافیلاکتیک شدید در بیماران با آنتی بادی های ضد IgA ایجاد کنند، تعداد موارد منتشر شده از این عارضه جانبی، که ممکن است پس از درمان با فرآورده های خونی دیگر رخ دهد، بسیار جزئی است. در پیشگیری از این عارضه جانبی، قبل از هر درمان با IVIG میزان IgA در بیمار باید تعیین شود. IVIG همچنین حاوی مقدار بسیار کم از محلول CD4، CD8 و مولکول HLA و برخی سیتوکین ها است.

سایر داروهای پروتئینی پلاسمایی بالقوه

سایر ترکیب های پروتئینی در می زان های کوچک به صورت تجربی و آموزشی پالایش شده اند. در مرحله بعدی پالایش پلازما، مهار کننده های پروتئاز با غلظت بالا حاصل می شود. این پروتئین ها قادرند تا آنزیم های پروتئاز (آنزیم های تجزیه کننده پروتئین) که در طی پروسه انعقاد، تجمع پلاکت های خونی و فعالیت سیستم مکمل آزاد می شوند، را مهار کنند. مهار کننده های پروتئاز از کاهش عملکرد این پروسه ها ممانعت می کنند.

مهارکننده C1 استراز^{۳۷}

مهارکننده C1 استراز که یک پروتئین مهاری است و در طول پالایش پلازما به دست می آید، برای درمان فازهای حاد آنژیوادم به طور اولیه در ناحیه گلو و دستگاه گوارش، در بیماران با کمبود مادرزادی و یا اکتسابی ممانعت کننده C1 به کار می رود. فقدان این پروتئین سبب عود ضایعات زیر جلدی، آنژیوادم قسمت های نرم صورت، گلو، دست ها و پاها و مسیرهای گوارشی می شود که می تواند منجر به نارسایی های جدی تنفسی و ناهنجاری های روده ای گردد.

فرم ارثی فقدان مهارکننده C1 استراز یا آنژیوادم ارثی (HAE) خیلی نادر است و به نسبت ۱ در ۲۰۰۰۰ تا ۳۰۰۰۰ نفر شایع می باشد. فرم اکتسابی یا آنژیوادم اکتسابی (AAE) حتی خیلی نادرتر بوده و معمولاً در بیماران با بیماری های مزمن مانند بیماری های اتو ایمنی یا بیماری های بدخیم مشاهده می شود. بر خلاف بیماران HAE، مبتلایان به AAE، مهارکننده C1-esterase را تولید می کنند اما این ها به طور وسیع توسط اتو آنتی بادی ها که بر علیه این مهارکننده هستند، از بین می روند. در اروپا سه نوع از این ماده مورد تایید قرار گرفته است. تولیدات مربوطه بعد از استخراج PCC و آنتی ترومبین به وسیله کروماتوگرافی از پلاسمای عاری از کرایو تخلیص می شوند. غیرفعال سازی ویروسی به وسیله پاستوریزاسیون، حرارت بخار و یا SD با ترکیبی از نانوفیلتراسیون انجام می گیرد.

آنتی ترومبین^{۳۸}

این ماده اولین محصول استخراج شده از پلازما به طریق افینیتی کروماتوگرافی بود. در محصول به دست آمده از پلاسمای عاری از کرایو، معمولاً از کروماتوگرافی تغییر یونی برای خارج کردن ترکیب های PCC استفاده می شود. به دنبال آن آنتی ترومبین توسط هپارین ساکن گرفته می شود. غیر فعال سازی ویروسی به روش قدیم با پاستوریزه کردن در حضور سیترات سدیم و یا ترکیبی از ساکاروز و گلیسین و همچنین با استفاده از SD صورت می گیرد. چون حرارت ممکن است به طور ناقص باعث دناتوره شدن آنتی ترومبین شود، در مرحله دوم برای خارج کردن ملکول های دیگر از روش جذب در روی هپارین ساکن استفاده می شود. فرآوری

محصول بین ۲۵۰ و ۳۵۰ واحد در لیتر پلاسما می‌باشد. فراکشن IV-1 یک ماده شروع کننده جایگزین است ولی میزان محصول به دست آمده از آن بسیار کم است.

ترانسفرین

ترانسفرین، پروتئین عمده پلاسمایی است که آهن به آن متصل می‌شود و ممکن است از اثرات سمی سلولی و یا از اثرات سوء تجمع آهن متصل نشده به ترانسفرین جلوگیری نماید. یک آپوترانسفرین لیپیدی به وسیله کروماتوگرافی تعویض دو یونی و اولترافیلتراسیون از فراکشن IV کهن به دست می‌آید. اطمینان از عدم وجود ویروس با استفاده از تیمار SD، نانوفیلتراسیون، رسوب دهی با پلی اتیلن گلیکول حاصل می‌شود. محصول دارای قدرت اتصال به آهن بوده و در سرم دارای اثر ممانعت کننده‌گی از رشد باکتری می‌باشد. در بیمارانی که به آن‌ها سلول‌های بنیادی^{۳۹} پیوند زده شده است این ماده از ظهور آهن غیر متصل به ترانسفرین جلوگیری می‌کند.

آپولیپوپروتئین A-1

آپولیپوپروتئین A-1 یک ترکیب پروتئینی اساسی از لیپوپروتئین‌ها با چگالی بالای پلاسما می‌باشد. این ماده از انباشت کلسترول در ماکروفاژها که در دیواره شریان‌ها نشسته می‌کنند جلوگیری می‌کند. آپولیپوپروتئین A-1 در آزمایشگاه از لیپاز و لیپوپروتئین لیپاز کبدی ممانعت می‌کند. این ماده به روش رسوب دادن، از فراکشن III کهن به دست می‌آید.^(۲۸)

پلاسمین

پلاسمین، یک آنزیم فیبرینولیتیک عمده در پلاسما می‌باشد. یک معرف فیبرینولیتیک جدید از مدل‌های حیوانی به دست آمده است جایی که پلاسمین از طریق یک کاتتر جهت درمان انسداد جریان شریانی به طور مستقیم در لخته به کار رفت.

پروتئین C فعال شده

پروتئین C فعال شده می‌تواند در درمان عفونت باکتریایی خون با ارزش باشد و این از ملاحظات کلینیکی استفاده از این داروی نوع نوترکیبی آن استنباط می‌شود. تا حالا موردی از استفاده پروتئین C فعال شده مشتق از پلاسما برای درمان بیماران دیده نشده است، گرچه روشی برای تهیه این ماده، با خلوص بالا از پلاسمای عاری از کرایو عرضه شده، که در آن از ایمونوآفینیتی و کروماتوگرافی تعویض یونی و غیرفعال‌سازی ویروسی به روش SD استفاده شده است. (^{۲۹}) همچنین برای پیدا کردن مواد جایگزین داروهایی که در حال حاضر مورد استفاده هستند نیاز به تحقیق بیشتر می‌باشد. دو ماده پروتئین C صنعتی در اروپا و یکی در ژاپن وجود دارد. در یک فرآیند، PCC تحت آبشار تخلیص در سه تغییر یونی قرار می‌گیرد. (^{۳۰}) در صورتی که در فرآیند دیگر، فرآیندهای کروماتوگرافی ایمونوآفینیتی و آفینیتی با تغییر یونی ترکیب می‌شوند. حذف ویروسی به وسیله SD حاصل می‌گردد که می‌تواند با نانو فیلتراسیون ۱۵ نانومتری و یا تیمار حرارت بخار ترکیب شود.

فصل سوم

صنعت پالایش پلا سما

محصولات دارویی مشتق از پلازما برخلاف داروهای سنتز شده شیمیایی یا داروهای بیولوژیکی ساخته شده توسط رده‌های سلولی نو ترکیب، صرفاً از پلاسمای انسانی به دست می‌آیند. فرآیند تولید این داروها با جمع‌آوری پلاسمای انسانی از اهدا کنندگان سالم آغاز می‌شود که به شدت توسط مقامات متعدد در سراسر جهان نظارت شده است تا هم ایمنی پلازما و هم سلامت اهدا کننده را تضمین کند. میزان داروهای مشتق از پلاسمای تولید شده به در دسترس بودن ماده اولیه‌ی آن یعنی پلاسمای انسانی بستگی دارد از این رو داشتن پلاسمای کافی برای پالایش امری ضروری است.

قابل توجه این‌که از اهداف مهم مراکز انتقال خون، تولید محصولات مختلف پلاسمایی و مصرف اجزای مختلف و ضروری آن، جهت بیماران می‌باشد. بدین ترتیب از مصرف خون کامل پیشگیری می‌گردد. این امر عمدتاً به دو دلیل می‌باشد. اول این‌که فرآورده پلاسمایی در حجم کمتر می‌تواند قدرت اثر بالاتری داشته باشد و دوم این‌که فرآورده پلاسمایی، دارای آلودگی بسیار کمتر از خون کامل بوده و مسئله سازگاری خونی در این محصولات کمتر و یا مطرح نمی‌باشد.

در مرحله‌ی ادغام پلازما، پلاسماهای جمع‌آوری شده در یک ظرف که اصطلاحاً به آن استخر^{۴۰} گفته می‌شود، ترکیب می‌شوند. استخر پلازما خود تحت آزمایش‌های اضافی جهت بررسی احتمالی وجود پاتوژن‌ها قرار می‌گیرد و به دنبال آن پلازما به بخش‌های مختلف جدا شده و پروتئین‌های درمانی تحت فرآیند پالایش پلازما از آن استخراج می‌شوند. (۳۱)

مطالعات و انجام فعالیت‌ها در زمینه تولید فرآورده‌های بیولوژیک مشتق از خون از دهه‌های اولیه قرن گذشته آغاز شد. این روند از شناسایی اولیه در سیستم گروه خونی در سال ۱۹۲۰ شروع و سپس در خلال بیست سال به شناسایی گروه‌های خونی دیگر میسر گردید. در آن زمان تنها خون کامل، پلازما و گلبول‌های قرمز به عنوان عامل درمانی برای بیماران مورد استفاده قرار می‌گرفت.

در قرن نوزدهم علاقه و توجه به قسمت مایع و آبکی خون به سرعت افزایش یافت. در آن موقع ثابت شده بود که این قسمت می‌تواند به‌عنوان منبع جدیدی از اجزایی باشد که قابل جداسازی هستند. در سال ۱۸۸۸، دانشمند آلمانی Hafmeissres مقالاتی در رابطه

با رفتارها و محلولیت پروتئین‌های خونی منتشر کرد. وی با استفاده از سولفات آمونیوم مشتقاتی که آلبومین و گلوبولین نامیده شدند را جدا نمود. اصول تکنیک جداسازی وی که به نام جداسازی رسوبی^{۴۱} شناخته شده می‌شود، هنوز هم استفاده می‌گردد.

تحقیقات در زمینه تأمین مقادیر کافی خون یا جانشین‌های آن با شروع جنگ جهانی دوم و با کمبود خون در اروپا گسترش پیدا کرد. در سال‌های ابتدایی شروع جنگ، با بحث و تبادل اطلاعات در زمینه رفع نیاز مبرم به خون، دانشمندان به این نتیجه رسیدند که آلبومین حاصل از پلاسمای انسانی می‌تواند برای درمان مصدومین جنگی در صدمات شدید و شوک مورد استفاده قرارگیرد. بدین ترتیب فرآیند جداسازی مشتقات پلاسمایی در مقیاس بالا و از پلاسمای انسانی، با روش پالایش با اتانل در سرما یا روش کهن در دهه ۱۹۴۰ میلادی توسعه پیدا نمود. (۳۲ - ۳۳)

طی جنگ جهانی دوم و به دنبال نیاز به وجود محصولات دارویی مشتق از خون (آلبومین) برای نجات سربازان مجروح، صنعت پلاسما پدیدار گردید. به گونه‌ای که صلیب سرخ ملی آمریکا بیش از ۱۳ میلیون واحد خون را بین سال‌های ۱۹۴۲ تا ۱۹۴۵ جمع‌آوری کرد که بیش از ۱۲ میلیون واحد آن به پلاسما تبدیل شد و داروهای پروتئینی بسیاری از این ماده حیاتی به شیوه‌های مختلف جداسازی تهیه و در دسترس کادر درمان قرار گرفت که برای درمان سربازان با جراحات شدید استفاده قرار شدند. (۳۴)

جداسازی^{۴۲} پروتئین‌های مختلف پلاسما که به نام پالایش پلاسما^{۴۳} شناخته می‌شود اکنون به یک تجارت بین‌المللی تبدیل شده است. (۳۵) ادوین کهن و همکارانش در زمینه فن‌آوری پالایشگاه پلاسما موثرترین گام‌ها را در دهه پنجاه میلادی قرن پیش برداشتند. در خلال دهه‌های اخیر این فن‌آوری پیچیده‌تر گردیده، اکنون طیف وسیعی از محصولات مانند فاکتورهای انعقادی، ایمونوگلوبولین‌ها و آلبومین تولید می‌شوند. در عملیات پالایش پلاسما، از عواملی مانند اثر pH، قدرت یونی و حلال آلی (پلاریته حلال)، برای حلالیت پروتئین‌ها بهره می‌گیرند تا مشتقات زیادی را به دست بیاورند. (۳۶-۳۷)

41 precipitation-separation

42 Fractionation

43 Plasma Fractionation



ادوین کهن

ادوین کهن در دانشگاه شیکاگو، به عنوان فیزیکوشیمیست آموزش دید و برای سال‌های طولانی یکی از اعضای دپارتمان فیزیکوشیمی در دانشکده پزشکی هاروارد بود. وی از سال ۱۹۲۰ تا اواسط دهه ۱۹۳۰ مشغول تحقیق در موضوعات دیگر مانند مطالعه فیزیکوشیمیایی آب و یا نان بود ولی هرگز از علاقه وی نسبت به پروتئین‌ها چیزی کم نشد (۳۸) و بالاخره در طی جنگ جهانی دوم موقعیتی جهت پالایش پلازما برای او فراهم گردید. (۳۹- ۴۰)

کهن عقیده داشت جداسازی پروتئین‌ها و لیپیدها در مایعات بیولوژیک و یا بافت‌های مختلف با کنترل حلالیت آن‌ها در یک سیستم چند متغییری امکان‌پذیر است و می‌توان شرایط را به نحوی تغییر داد که اختلاف حلالیت بین اجزای مختلف ایجاد گردد و هر چه این اختلاف حلالیت بیشتر باشد، در جداسازی نتیجه بهتری حاصل می‌شود. در مورد ایجاد اختلاف حلالیت یک راه این است که شرایط طوری انتخاب شود که حلالیت پروتئین مورد نظر حداکثر و حلالیت پروتئین‌های دیگر حداقل گردد. در این حالت پروتئین مورد نظر در محلول باقی می‌ماند و پروتئین‌های دیگر رسوب می‌کنند اما در راه دوم شرایط به صورت عکس انتخاب می‌گردد، بدین معنی که پروتئین مورد نظر رسوب می‌کند. (۴۱)

در حالت اول حلالیت پروتئین باید بیش از ۱۰ گرم در لیتر و در حالت دوم حلالیت آن باید بین ۰/۱ تا ۰/۰۱ گرم در لیتر باشد. با تغییر دادن پارامترهای فوق‌الذکر، حلالیت پروتئین‌های مورد جداسازی تغییر می‌یابد و به صورت جداگانه رسوب می‌کنند. (۴۲)

فرآیند پالایش کهن، برای تولید آلبومین و نیز پروتئین‌های ارزشمند دیگر، مثل گلوبولین‌های سرم ایمن و چسب فیبرینی و فیلم فیبرینی همراه با ترومبین در سال ۱۹۴۵ مورد توجه قرار گرفت. (۴۳) در دوره جنگ جهانی دوم صنعت پالایش پلازما، به تهیه آلبومین محدود می‌شد. (۴۴) مشتقات پروتئینی پلازما در دهه ۱۹۵۰ به عنوان مکمل آلبومین ابداع گردیدند. (۴۵) در این دوران کار محدودی در خصوص تهیه فاکتور هشت و ایمونوگلوبولین داخل عضلانی وجود داشت.

آلبومین تا دهه ۱۹۶۰ برای پالایش پلازما یک محصول اقتصادی بود تا وقتی که فاکتور VIII انعقادی با خلوص متوسط به عنوان یک مشتق از پالایش پلازما جهت درمان هموفیلی ابداع گردید. با در دسترس بودن گسترده فاکتور VIII انعقادی در اواخر دهه ۱۹۶۰ تا اواخر دهه ۱۹۷۰، هموفیلی از یک بیماری ناتوان کننده با امید به زندگی کوتاه به وضعیتی با طول عمر و سبک زندگی تقریباً طبیعی تبدیل شد (۴۶) تولید فاکتور VIII انعقادی به روش نو ترکیب در دهه ۱۹۸۰ همراه با ایمونوگلوبولین داخل وریدی باعث گردید که این محصول از نظر اقتصادی جایگزین فاکتور VIII انعقادی مشتق از پلازما شود. (۴۷) محصول دیگر مشتق از پلازما که در دهه ۱۹۷۰ ابداع شد شامل کمپلکس پروترومبین بود که توسط فاکتور IX انعقادی حاصل از پلازما و یا به صورت نو ترکیب جایگزین گردید. از اواخر دهه ۱۹۸۰ افزایش روز افزون نیاز جهانی برای ایمونوگلوبولین‌ها ایجاد شد و با سرعتی پایدار تا اواخر دهه ۲۰۰۰ ادامه یافت و از تقاضای جهانی حدود ۲۰ تن در اوایل دهه ۱۹۹۰ به حدود ۱۴۰ تن در سال ۲۰۱۴ رسید و با سرعت ثابت در حدود ۶ تا ۸ درصد در سال این رشد ادامه یافت. (۴۸ - ۴۹)

محرك اولیه حرکت به سمت پالایش پلازما، آلبومین سرم انسانی^{۴۴} (HSA) بود که به‌وسیله فرآیند پالایش اتانول پلازما به‌دست می‌آمد و در مقادیر کافی به عنوان افزایش دهنده حجم پلازما در جبهه‌های جنگ جهانی دوم مورد استفاده قرار می‌گرفت. کهن از Charles Janeway درخواست کرد تا ترکیبات پلازما را در محل آزمایشگاه آزمایش کند. شرکت Armour در شیکاگو، به تصور

تولید آلبومین ارزان و پایان ناپذیر از منبع حیوانی، در صدد تولید سرم آلبومین گاوی^{۴۵} (BSA) خالص از پلاسمای گاو بود. بیمارانی که سرم آلبومین گاوی دریافت نمودند دچار بیماری شدید سرم^{۴۶} شدند که این کار باعث توقف ناگهانی آزمایش‌های بالینی بیشتر روی سرم آلبومین گاوی گردید. در این میان Janeway در جولای ۱۹۴۱، چند ماه بعد از شکست آزمایش‌های بالینی با سرم آلبومین گاوی، آلبومین سرم انسانی را به ۸ بیمار در حال شوک و ۳ دانشجوی پزشکی که عمداً تا سر حد شوک دچار خونریزی شده بودند تزریق نمود. شماره سپتامبر مجله پزشکی New England، نتایج عالی را با آلبومین سرم انسانی منتشر کرد و در گزارشی آینده بزرگی را برای روش پالایش کهن جهت قربانیان جنگ پیش بینی نمود. روش پالایش پلازما به زودی یک روش معتبر برای تولید آلبومین سرم انسانی در دنیا شد و توجه بسیاری را در سراسر جهان جلب کرد.



تزریق آلبومین به مجروح جنگی، جنگ جهانی دوم

به‌زودی بهینه سازی روش کهن توسط Kistler و Nitschmann استاندارد گردید. Kistler یک بیوشیمیست در کارخانه اصلی آزمایشگاه مرکزی صلیب سرخ سوئیس بود که شرایط مطلوبی را که در آن بهترین محصول به‌دست می‌آید را بررسی می‌کرد و Nitschmann کرسی بیوشیمی را در دانشگاه برن در اختیار داشت.

45 bovine serum albumin
46 serum sickness

بعد از جنگ جهانی، پیشرفت‌های جدیدی حاصل گردید. در سال ۱۹۶۴ Judith pool آمریکایی به‌طور تصادفی کشف کرد که اگر پلاسمای منجمد شده، به آرامی در درجه حرارت بالای نقطه انجماد ذوب شود، رسوبی حاصل می‌گردد که شامل مقدار زیادی فاکتور VIII انعقادی است. کشف کرایوپرسیپیتیت^{۴۷} به مفهوم به‌دست آوردن فاکتور VIII انعقادی و پیشرفتی برای درمان بیماران با بیماری‌های انعقادی خون و هموفیلی بود.

همان‌طور که ذکر شد در اوایل دهه ۱۹۴۰ میلادی کهن روند پالایش پلازما را در ایالت بوستون کشف کرد. بعد از شناخت موثر و ایمن بودن آلبومین و این که می‌توان آن را در مقادیر فراوان تولید نمود، مراکز متعددی جهت پالایش پلازما در ایالات متحده تأسیس گردیدند.

شرکت‌های دارو سازی آمریکایی که در سالیان ابتدایی صنعت پالایش دخالت داشتند عبارت بودند از:

✓ Parke Davis که در لس‌آنجلس تأسیس گردید و اکنون به نام Grifols فعالیت دارد.

✓ Armour که در نزدیک شیگاگو واقع بود و اکنون به نام CSL Behring فعالیت دارد.

✓ Cutter در برکلی

✓ Cutter در لس‌آنجلس

✓ Baxter در گلن دال نزدیک لس‌آنجلس

همچنین برخی موسسات عمومی (غیر خصوصی) مانند آزمایشگاه بیولوژی میشیگان، مراکزی را بنیاد نهادند تا پلاسمای انسانی را پالایش کنند.

در اروپا مراکز پالایشگاهی در کشورهای مختلف تأسیس گردیدند. (۵۰)

✓ Behringwerke در آلمان (بخشی از کمپانی دارویی Hoechst)

✓ Sclavo, Farma Biagini در ایتالیا

✓ Centre National de Transfusion Sanguine and Institut Merieux در فرانسه

✓ Grifols در اسپانیا

✓ Swiss Red Cross Blood Transfusion Service در سوئیس

در ژاپن شرکت تعاونی Green Cross اولین مرکز پالایش پلازما را در آسیا بنیاد کرد. (۸)

این مراکز، تولید آلبومین و فرآورده‌های ایمونوگلوبولین وسیع الطیف (نرمال) و نیز ایمونوگلوبولین‌های اختصاصی مانند ایمونوگلوبولین ضد کزاز، ایمونوگلوبولین ضد هپاتیت B، ایمونوگلوبولین ضد هاری و سایر ایمونوگلوبولین‌ها را آغاز کردند. ایمونوگلوبولین Rho(D) در اواخر دهه ۱۹۶۰ به همراه فاکتورهای انعقادی VIII و IX عرضه شدند.

پایان جنگ جهانی دوم منجر به تخریب زیرساخت‌های صنعت پالایش پلازمایی شد که طی جنگ بوجود آمده بودند. شرکت‌های خصوصی منطقه‌ای که در طی جنگ مشغول به پالایش پلازما بودند به کار خود ادامه دادند و طی ۵۰ سال گذشته، تعدادی از این شرکت‌های خصوصی درگیر پالایش پلازمایی تجاری شدند که عبارتند از CSL در استرالیا، (Grifols, Immuno, Octapharma و Behring در اروپا و Hyland, Cutter, Armour و غیره در ایالات متحده آمریکا. همچنین فعالیت‌هایی به صورت پالایش ملی صورت گرفت که به تضمین خودکفایی در خون و فرآورده‌های خونی کمک می‌کرد. (۵۲ - ۵۳)

سر و صدای تکنولوژی استفاده از پلازما با حجم بالا از یک سو و بازرسی سخت گیرانه از سوی دیگر، این موضوع را می‌رساند که چرا این تکنولوژی به عنوان روش اصلی و هسته مرکزی در صنعت پلازما باقی مانده است. در طی سال‌ها، این فن‌آوری پیچیدگی فزاینده‌ای پیدا کرده است و استفاده از روش‌های کروماتوگرافی بهبود کیفی و کمی تولیدات دارویی پروتئینی را ممکن ساخته است و شکل و شمایل پالایش، با معرفی تکنیک‌های ویروس زدایی در حین تولید، همچون کروماتوگرافی و اولترافیلتراسیون تغییر یافته است.

نباید فراموش کرد که داروهای پروتئینی مشتق از پلازما گران قیمت بوده و در کشورهای در حال توسعه به طور گسترده در دسترس نمی‌باشند. فاکتور VIII انعقادی که به عنوان داروی پروتئینی عمده مورد نیاز در کشورهای در حال توسعه محسوب می‌گردد. در کشورهای ثروتمند از نظر اقتصادی زیاد مورد توجه نمی‌باشد. کاهش استفاده از فاکتور VIII انعقادی یا فاکتور IX انعقادی مشتق از پلازما، در اقتصادهای توسعه یافته (که در آن‌ها بیماران هموفیلی داروهای نو ترکیب مصرف می‌کنند)، باعث مزاد تولید آن‌ها در کشورهای در حال توسعه می‌گردد که از نظر اقتصادی مناسب نیستند. این تغییر روش استفاده از محصولات نو ترکیب در کشورهای

غنی، می‌تواند باعث شود که کشورهای فقیر از عهده هزینه‌های افزایش یافته محصولاتی که قبلاً توسط کشورهای غنی برای آنها یارانه پرداخت می‌شد، بر نیایند. به همین دلیل این موضوع حائز اهمیت می‌باشد که با ابداع تکنولوژی‌های تولید و ویروس زدایی قابل اجرا در کشورهای در حال توسعه، به این کشورها اجازه داده شود تا از منابع پلاسمایی محلی خود در شرایط سالم استفاده کنند.

(۵۴)

پالایش پلازما علی‌رغم گذشت دهه‌ها از تولدش، ارتباط خود را برای اقدامات درمانی از دست نداده است. دنیای وسیعی از پروتئین‌های پلاسمایی مفید برای بیماران وجود دارد. با پیشرفت در قدرت پیشگویی‌کننده شاخص‌های بیوشیمیایی که در آزمایشگاه‌های پزشکی جهت مشخص کردن التهاب‌ها، اختلالات ایمنی، اکسیژن‌رسانی ناقص بافتی و تغییرات در غدد داخلی اندازه‌گیری می‌شوند، بیشتر بیماران به مرحله‌ای از بیماری می‌رسند که تجویز پروتئین‌های استخراج شده از اهدا کننده‌های انسانی سالم، ممکن است باعث ادامه حیات آنها شده و کیفیت زندگی را بهبود ببخشد.

در زمینه تولید داروهای بیولوژیک، پالایش پلازما نیازمند توان علمی بسیار بالایی است. ارتقاء سطح دانش و نحوه کاربرد صحیح فن‌آوری آزمایش‌های حساس در تشخیص شاخص‌های آلودگی در پلاسمای اولیه لازمه تولید فرآورده‌های پلاسمایی سالم است. به‌علاوه این صنعت نیاز مبرم به انتخاب دقیق فن‌آوری‌های تخلیص پروتئین‌های پلازما و روش‌های ویروس‌زدایی دارد به نحوی که خواص فیزیولوژیکی و اثرات بالینی این پروتئین‌ها تغییر نکند.

تولید و ساخت این محصولات باید با دقت فراوان و در شرایط محیطی بسیار تمیز انجام گردد. ساخت فرآورده‌های پلازما به روش‌های تولیدی پیچیده و چند مرحله‌ای نیاز دارد که شامل رسوب‌گیری، سانتریفوژ کردن، تخلیص به روش کروماتوگرافی، غیرفعال کردن و جداسازی ویروس‌ها، فیلتراسیون، اولترافیلتراسیون، تقسیم در ظروف مناسب در شرایط عاری از آلودگی و لیوفیلیزاسیون می‌باشد.

علاوه بر این، برخلاف بسیاری از تولیدات تزریقی، فرآورده‌های پلازما را نمی‌توان در شکل نهایی دارو مثلاً با بکارگیری اتوکلاو استریل نمود بنابراین فرآیند تولید علاوه بر شرایط بسیار تمیز به استفاده صحیح از مراحل فیلتراسیون نیاز دارد تا از عدم آلودگی و پیدایش مواد تب‌زا^{۴۸} ناشی از آندوتوکسین‌ها اطمینان حاصل گردد. به‌طور کلی در صنعت داروسازی، پالایش پلازما دارای

جدی‌ترین مقررات و استانداردهای تولید می‌باشد و به‌همین دلیل پالایش پلازما برای کشورهایی که قصد به‌کارگیری صنعت بیوتکنولوژی را دارند به‌عنوان اولین قدم، تجربه‌ای مناسب خواهد بود.

در دهه‌های اخیر محققین و متخصصین در پالایشگاه‌ها توانسته‌اند به پیشرفت‌های مهمی در زمینه فرآیندهای جداسازی و تخلیص پلازما نائل آیند که منجر به افزایش قابل توجه در بازدهی^{۴۹} تولید، ایمنی داروها از نظر عفونت‌های ویروسی و همچنین درجه خلوص بهتر شده است. این پیشرفت‌ها حاصل پردازش روش‌های معمول پالایش با الکل و افزودن مراحل کروماتوگرافی اختصاصی است که نتیجه آن تهیه تولیدات درمانی جدید با درجه خلوص بالاتر بوده است. حاصل این پیشرفت‌ها استفاده بهتر و منطقی‌تر از پلازمای انسانی و همچنین بهبود صرفه اقتصادی صنعت پالایش می‌باشد.

توالی تولید مشتقات پلازمایی شبیه چرخه‌های تصفیه نفت خام است و همان‌طور که در صنعت پالایش نفت خام اتفاق می‌افتد، فراکشن‌ها از پلازما جدا می‌شوند و سپس تحت پردازش‌های بعدی قرار می‌گیرند. رسوب کرایو منبعی از فیبرینوژن، فیبرونکتین، فاکتور VIII و فاکتور ون ویلبراند است. در حالی که از فراکشن IV آنتی‌ترومبین، فاکتورهای وابسته به ویتامین K و آلفا یک آنتی‌تریپسین حاصل می‌شود. همان‌طور که صنعت نفت به چهار تکنولوژی مجزای استخراج نفت خام، انتقال نفت به پالایشگاه، فرآیندهای پالایش و بازاریابی تقسیم شده است، در صنعت پلازما نیز چنین تقسیم‌بندی مشاهده می‌گردد که شامل خون‌گیری در مراکز اهدا، انتقال پلازما به شرکت‌های پالایشگر، فرآیندهای پالایش و در نهایت توزیع و فروش محصولات است. (۵۵)

اولین تجربه پالایش پلازمای انسانی بر روی پلازماهای خریداری‌شده از اهداکنندگان حرفه‌ای در دانشکده پزشکی هاروارد، یک سال پس از جنگ جهانی دوم توسط کهن و همکارانش به انجام رسید. هدف اصلی در کار انجام گرفته توسط کهن، جداسازی آلبومین جهت درمان مجروحین جنگی بود، اما در طی این فرآیند، پتانسیل دستیابی به ایمونوگلوبولین‌ها در فراکشن دوم و سوم فرآیند پالایش کهن (CohnII+III) نیز فراهم شد. (۵۶)

در طی سال‌های بعد و در اوایل دهه ۱۹۷۰ استفاده از روش‌های کروماتوگرافی مورد توجه دانشمندان در این صنعت قرار گرفت و کروماتوگرافی تعویض یونی وارد عرصه‌های تحقیقاتی و سپس در سال‌های بعد وارد عرصه‌های تولیدی در تهیه مشتقات پلاسمایی گردید. استفاده از روش‌های کروماتوگرافی مزایایی نسبت به روش رسوب‌گیری با اتانل داشت که از همه مهم‌تر بازده بالاتر محصولات بود. همچنین در روش‌های کروماتوگرافی برخلاف روش رسوب با اتانل، تجمعات^{۵۰} کمتری تولید می‌گردید و به دلیل پایین بودن سطح آنزیم‌های پروتئولیتیک در فرآورده نهایی، محصول به دست آمده حاصل از کروماتوگرافی پایداری بیشتری داشت. (۵۷)

در کار اولیه کهن، ابتدا فراکشن I و سپس فراکشن II و پس از آن فراکشن III جدا می‌شود. همچنین در چرخه کهن فراکشن IV به عنوان فراکشن IV-1 و IV-4 به دست می‌آمد و در نهایت فراکشن V حاصل می‌شد که قسمت عمده آن را آلبومین تشکیل می‌داد. (۵۸) در روش‌های بعدی کهن، با تغییراتی که در چرخه کلاسیک کهن داده شده بود، جداسازی فراکشن II و III در یک مرحله (II+III) امکان‌پذیر گردید و نیاز برای رسوب فراکشن IV-4 نیز حذف شد. (۵۹) در سال‌های بعد با تغییراتی که به مرور زمان اعمال گردید، امکان جداسازی فراکشن I+II+III در یک مرحله نیز فراهم گردید. (۶۰)

همچنین در چرخه کلاسیک کهن، فاکتور VIII از فراکشن I به دست می‌آمد که اولین منبع برای محصول درمانی فاکتور VIII به حساب می‌آید (۶۱) اما با شناسایی مرحله رسوب کرایو مقداری زیادی از فاکتور VIII، فیبرینوژن و فاکتور فون ویلبراند در مرحله رسوب کرایو جدا گردید. در چرخه کهن آلفاگلوبولین‌ها در فراکشن IV یافت می‌شوند در حالی که بتا و گاماگلوبولین‌ها و بتالیوپروتئین‌ها در فراکشن I+II+III و یا فراکشن III و یا (II+III) وجود دارند. همچنین آلفا یک آنتی تریپسین که در حال حاضر مهارکننده آلفا یک پروتئیناز^{۵۱} نامیده شده و به عنوان فاکتور رشد شبه انسولینی^{۵۲} نیز شناخته می‌شود، در فراکشن IV و پلاسمینوژن در فراکشن III موجود است. (۶۲)

50 Aggregation
51 $\alpha 1$ proteinase

پس از گذشت دهه‌ها از آغاز صنعت پلازما در جهان، هنوز در بسیاری از شرکت‌های پالایشگر از روش‌های پایه کهن استفاده می‌گردد. اگر چه این صنعت با پشت سر گذاشتن بحران‌های فراوان، مراحل دشواری را سپری کرده، اما هر بار به مرحله تکاملی نوینی وارد شده است.

اکنون سوالی که مطرح می‌شود این است که با وجود این که امروزه در معیار آزمایشگاهی، بیوشیمیست‌ها روش‌های دقیق‌تر تخلیص پروتئین مانند ژل فیلتراسیون، کروماتوگرافی‌های تعویض یونی، جذب میل ترکیبی، جذب ایمنی و امثال آن را مورد استفاده قرار می‌دهند چرا روش قدیمی پالایش پلازما به روش کهن تا بدین مدت معتبر مانده که هنوز روش غالب جهت تولید مشتقات پلازما می‌باشد؟ پاسخ این است که هیچ کدام از این روش‌های آزمایشگاهی الزامات فرایند قابل تکثیر بالک (عمده) را در مقادیر صنعتی ندارند. گذشته از این، نیاز جهانی برای ایمونوگلوبولین وسیع‌الطیف نرمال تزریق وریدی (IVIG) ۵۰ تن تخمین زده می‌شود. در ضمن، مراحل ویروس‌زدائی که یک‌دیگر را در حالت فعالیت‌شان تکمیل می‌کنند، یکی از آن‌هایی که به‌صورت ایمن ویروس‌های پوشش دار را خارج می‌کنند، نمی‌تواند در ستون‌های شستشوی^{۵۲} بزرگ انجام شود. به این دلیل است که پالایش پلازما به روش کهن در مقیاس بزرگ هنوز مورد استفاده است و مقادیر پائین آن در آزمایشگاه‌های تحقیقاتی، که به آن‌ها به عنوان کارخانه‌های اصلی اشاره شده است، به حد عالی رسیده است.

پیچیدگی فرآیند تولید داروهای مشتق از پلازما شامل جمع‌آوری ایمن آن، جداسازی و استخراج پروتئین‌ها، بر مدت زمانی که از اهدای پلازما تا تجویز دارو برای بیمار طول می‌کشد تأثیر می‌گذارد. این بازه‌ی زمانی ممکن است بین ۷ تا ۱۲ ماه طول بکشد. بنابراین بسیار حائز اهمیت می‌باشد که حجم کافی پلازما همیشه برای پالایش در دسترس باشد. بر این اساس افزایش غیر منتظره نیاز بالینی برای داروهای مشتق از پلازما همانند شرایطی که برای پاندمی کووید ۱۹ اتفاق افتاد را نمی‌توان در کوتاه‌مدت برطرف نمود. علاوه‌براین برای اطمینان از این که سری‌های تولیدی داروها می‌توانند بدون وقفه تولید شوند، تولیدکنندگان نمی‌توانند به یک منبع واحد یا غیرقابل‌پیش‌بینی پلازما (مثلاً یک مرکز جمع‌آوری یک کشور یا حتی یک منطقه جغرافیایی واحد) تکیه کنند. در این راستا، زنجیره ارزش این دسته از داروها و شبکه جمع‌آوری و تولید پلازما باید ماهیت

52 Insulin-like growth factor

53 elution

جهانی داشته باشد و در دسترس بودن پلازما در بین کشورها و مناطق مختلف را در برگیرد. این دلایل توضیح می‌دهند که چرا جمع آوری ماده خام این صنعت یعنی پلاسمای انسانی و فرآیند پالایش آن سهم ۵۷ درصدی را در مقایسه با سهم ۱۴ درصدی کل هزینه تولید برای سایر داروها را مطابق جدول ۱ تشکیل می‌دهند. (۶۳)

جدول (۱) ساختار هزینه‌ای در صنعت داروسازی در مقایسه با صنعت پالایش پلازما

سایر هزینه‌ها	فروش و بازاریابی	هزینه‌های تولید و مواد خام	تحقیق و توسعه	
24%	10%	57%	9%	صنعت پلازما
31%	30%	14%	25%	صنعت داروسازی

تولیدکنندگان به منظور بازیابی هزینه‌های تولید خود تلاش می‌کنند تا تعداد پروتئین‌های درمانی را که می‌توانند از هر لیتر پلاسمای جمع آوری شده استخراج کنند به حداکثر برسانند. بدین منظور هر تولیدکننده هزینه‌های قابل توجهی را صرف بهینه‌سازی فرآیند پالایش خود می‌کند تا حداکثر بازدهی را برای پروتئین درمانی مورد نظر استخراج نماید و بتواند ایمنی و کارایی آن را نیز تضمین کند. (۶۴)

همان‌گونه که اشاره شد در صنعت پلازما اجزای هزینه‌های بازار به دلایل متعدد با صنایع دارویی سنتی یکسان نیست. داروهای مشتق از پلازما معادل‌های عمومی قابل جایگزین یا "زیست مشابه" ندارند که این امر نشان‌دهنده انتظارات متفاوت در مورد قیمت‌ها در طول زمان می‌باشد. در این صنعت، هزینه‌های تولید سهم نسبتاً زیادی از کل هزینه‌های محصول نهایی را شامل می‌گردد و بیشتر مالکیت معنوی که برای محصولات اعمال می‌شود به فرآیندهای تولید مربوط می‌گردد از این‌رو رقابت نمی‌تواند منجر به کاهش قیمت بسیار زیاد شود. (۶۵)

با این حال، فرآیندهای تولید مختلف، منجر به تغییراتی بین محصولات می‌گردد که بر تحمل بیمار و ویژگی‌های محصول تأثیر می‌گذارد که در نتیجه منجر به تفاوت‌های موجود بین برندهای مختلف می‌شود. به عنوان مثال

برای ایمونوگلوبینهای تزریقی این تفاوت‌ها می‌تواند از تفاوت در نیمه عمر نحوه‌ی نگهداری تا مقدار محتوای ایمونوگلوبین A متغیر باشد. (۶۶)

تامین پلاسما

در سالیان آغازین این صنعت، صلیب سرخ و سایر مراکز انتقال خون غیر انتفاعی تامین پلاسما را بر عهده داشتند، اما با گسترش تدریجی مراکز پالایش پلاسما، این موسسات قادر به تامین کافی پلاسمای مورد نیاز نبودند. در نتیجه تمرکز بخش تجاری بر روی جمع‌آوری پلاسما برای پالایش قرار گرفت و تعداد زیادی سازمان‌های خصوصی جمع‌آوری پلاسما در ایالات متحده تاسیس شد. این بخش به دلیل این که در ایالات متحده اهدای پلاسما دو بار در هفته (با فاصله دو روز) برای هر فرد مجاز است و میزان سالیانه‌ی پلاسمای جمع‌آوری شده در حدود ۶۵ لیتر می‌باشد بسیار رشد کرد، این در حالی است که در بیشتر کشورها به دلیل قوانین نظارتی این میزان حداکثر ۱۵ تا ۱۸ لیتر پلاسما در طی یک‌سال است.

پلاسمای جمع‌آوری شده در این مراکز به روش پلاسما فرزیس به نام پلاسمای منبع^{۵۴} شناخته می‌شود و پلاسمای به‌دست آمده از خون کامل، به نام پلاسمای بازیافتی^{۵۵} معروف است. تا اواسط دهه ۱۹۸۰ میلادی، پلاسمای جمع‌آوری شده در کیسه‌ها با روند سانتریفیوژ از خون کامل جدا می‌شد، با معرفی ماشین‌های خودکار پلاسما فرزیس در دهه ۱۹۸۰ ایمنی و موثر بودن روند اهدا افزایش یافت.

پلاسمای بازیافتی، ذخیره‌ی استفاده نشده از داروهای حیات بخش

در مرکز جمع‌آوری خون، اولویت به تامین مقادیر کافی از اجزای ناپایدار خون، به ویژه گلبول‌های قرمز و پلاکت‌ها، داده می‌شود و پلاسما اهمیت کمتری دارد. با این وجود، پلاسمای بازیابی شده، منبع خوبی از پلاسما برای تولید پروتئین‌های درمانی است. هر چند که در برخی موارد شاید بهترین نباشد.

در تعدادی از کشورها به ویژه کشورهای در حال توسعه، مراکز خون بر روی بیمارستان‌ها تمرکز دارند که اجزای خونی ناپایدار تامین شود و از پلاسما، غفلت شود. نیاز برای گلبول‌های قرمز و پلاکت‌ها سبب می‌شود که مراکز خون، یک تعداد مشخص از واحد‌های

54 Source

55 Recovered Plasma

خونی را برای پوشش دادن بیمارستان ها جمع آوری کنند. مقدار واحدهای خون کامل جمع آوری شده طوری است که به طور متداول مقداری پلاسما که بیشتر به صورت پلاسمای منجمد تازه است، به صورت استفاده نشده باقی بماند. تعدادی از واحدهای پلاسمای تازه منجمد برای درمان بیماران مبتلا به بیماری های انعقادی و سایر بیماری ها تحویل بیمارستان ها می گردد، اما پلاسمای مازاد انبار شده و در آخر معدوم می شود. این پلاسما می تواند به مرکز پالایش، خواه بومی و خواه خارجی، ارسال شده تا داروهای مشتق از پلاسمای حیات بخش تولید گردد.



خون در مراکز معتبر خون گیری جمع آوری می شود و سپس پلاسمای آن جهت استفاده در پالایش جداسازی می گردد و ترجیحاً در مدت ۶ ساعت بعد از اهدا در منهای ۲۰ درجه سانتی گراد و کمتر منجمد می شود. تحت هیچ شرایطی زمان انجماد بیشتر از ۲۴ ساعت پس از اهدا نمی باشد.

در برخی نقاط دنیا، به ویژه در کشورهای دارای اقتصادهای نو ظهور، استانداردهای جمع آوری پلاسما مطابق با الزامات مورد نظر پالایشگاه ها نیست. همانطور که این مراکز تحت فشار هستند که قوانین سخت گیرانه و مقررات در مورد کیفیت فعالیت هایشان، به ویژه در مورد کیفیت مواد خام را رعایت کنند و از آن ها پیروی نمایند، پالایشگاه ها هم باید در مورد پلاسمای مورد استفاده خیلی دقت به خرج داده و انتخابی عمل کنند. برای مثال طبق قوانین نظارتی اروپا در حوزه سلامت (۶۷) پلاسمای انبوه شده برای پالایش باید در مورد HIV، هپاتیت A، B، C و نیز پارو ویروس B19، مورد آزمایش قرار گیرد. خون جمع آوری شده در بیشتر مراکز در

سرتاسر دنیا اغلب قادر به مطابقت با این مقررات نیست و سبب می شود که مقداری از پلاسمای بازیابی شده قابل استفاده نباشد. سایر مشکلات در مورد حمل و نقل و پشتیبانی است که شامل ذخیره سازی پلازما و حمل آن به مرکز پالایش کننده است. این موانع و مشکلات غیر قابل حل نیستند، همان طور که پالایش قراردادی ما بین شرکت ها خصوصی یا عمومی پالایش کننده و مراکز انتقال خون در برزیل، ایران، هنگ کنگ، سنگاپور، تایوان، تونس و کشورهای دیگر موید این امر است. این مستلزم آن است که مراکز خون، استانداردهای جمع آوری خود را ارتقاء دهند که خود تلاشی ارزشمند در زمینه استفاده بالینی و تجاری از پلاسمای بازیابی شده است. همچنین این موضوع به اهدا کنندگان نیز ارتباط دارد و به آن ها اطمینان می دهد که ماده گران بهای اهدایی آن ها به طور کامل مورد استفاده قرار می گیرد و هیچ جزء آن دور ریخته نمی شود.

در کلمبیا کشوری که استانداردهای جمع آوری خون در بین کشورهای منطقه خود در بالاترین جایگاه قرار دارد، تقریباً دو سوم پلاسمای بازیابی شده مورد استفاده قرار نمی گیرد. این مقدار نزدیک به ۹۰۰۰۰ لیتر پلازما در هر سال است که ارزش مادی آن تقریباً ۱۲ میلیون دلار می باشد. پالایش این مقدار پلازما می تواند بیش از ۲۴ میلیون دلار عاید این کشور کند. برقراری ارتباط نزدیک و مناسب بین مراکز جمع آوری پلازما و مرکز پالایش پلازما اهمیت به سزایی در کیفیت محصول دارد. در واقع پالایشگاه پلازما باید کاملاً در ارتباط با سازمان انتقال خون باشد تا بتوان هماهنگی لازم را ایجاد کرد. مراکز جمع آوری پلازما مسئول بسیج و انتخاب اهدا کنندگان مناسب و همچنین آزمایش های غربالگری دقیق و قابل اعتماد می باشد، از طرفی پالایشگاه پلازما مسئول بازیابی و بازرسی از مراکز جمع آوری پلازما جهت اطمینان از کیفیت مناسب پلازما است.

پلاسمای حاصل از پلاسمافریز، پلاسمای منبع

در مراکزی که مشتقات پلاسمایی جزئی از صنعت دارویی می باشد، ماده اولیه یا پلاسمای مصرفی از طریق پلاسمافریز بدست می آید که در مقایسه با روش تامین پلازما از اهدا کنندگان خون، مقادیر بسیار بیشتری از پلازما حاصل می شود. جمع آوری پلازما از اهدا کنندگانی است که معمولاً به آن ها مبالغی تحت عنوان هزینه پرداخت می شود. در این روش با فرض دسترسی به اهدا کنندگان دارای شرایط جسمانی و تغذیه مناسب که بتوانند پلاسمای خود را هر دو هفته یکبار اهدا نمایند، حدوداً یک اهدا کننده برای تولید ۱۰ کیلوگرم پلازما به ازاء هر نفر از جمعیت کافی خواهد بود.

هر دوی پلاسمای بازیابی شده و آفرزیس برای تولید صنعتی کلیه محصولات پلاسمایی مناسب هستند. میزان فاکتورهای انعقادی، به ویژه فاکتور هشت در پلاسمای بازیابی شده به دلایل الف) زمان طولانی قبل از فریز کردن صرف عملیات می شود (خون کامل بایستی طی عملیاتی به سلول های خونی و پلاسما جداسازی شود)، ب) نسبت بالای ضد انعقاد و ج) میزان زیاد آلودگی سلولی که ممکن است آنزیم های پروتئولیتیک تاثیر گذار بر پایداری فاکتور های انعقادی آزاد کنند، کمتر از پلاسمای آفرزیس است.



پلاسمای آفرزیس زمانی که از اهدا کنندگان مختلف جمع آوری می شود، حاوی مقدار کمی ایمونوگلوبولین (IgG) می باشد. ظاهراً سیستم آفرزیس مورد استفاده بر ترکیب های پروتئین و کیفیت پروتئین های پالایش شده تاثیر نمی گذارد، اگر چه میزان سلول باقی مانده بر اساس وسیله جدا کننده متغیر است.

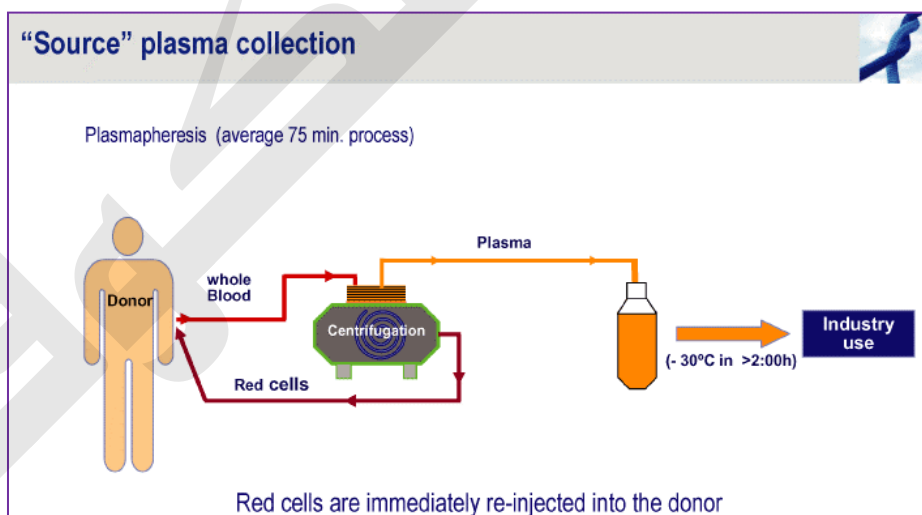
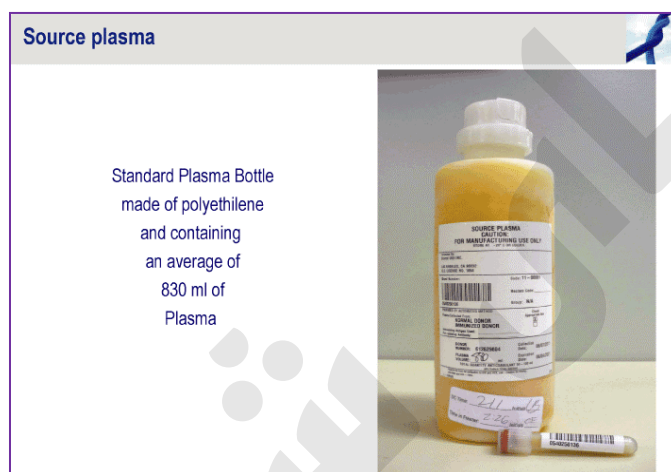
صنعت پالایش پلاسما در آمریکا به صورت تجاری بیشتر بر اساس استفاده از پلاسمای حاصل از پلاسمافرزیس است. در کشور چین هم صنعت پالایش پلاسما بر پایه source plasma بنا شده است ولی آن ها در حال بسیج اهدا کنندگان به صورت داوطلبانه می باشند. با این حال در این مرحله مشتقات پلاسما در دنیا به شدت وابسته به جمع آوری پلاسما بصورت تجاری در امریکا است. مثلث ایمنی در ساخت فرآورده های دارویی بیولوژیکی مشتق از پلاسما، باید برای تهیه فرآورده هایی با کیفیت و سالم رعایت شود. ارکان این مثلث عبارتند از :

۱. انتخاب اهدا کنندگان مناسب

۲. آزمایش هر واحد خون اهدایی، تا اطمینان حاصل شود که کلیه خون های آلوده به پاتوژن های قابل تشخیص و قابل انتقال از طریق انتقال خون حذف می شوند.

۳. بررسی مواد حین تولید و فرآورده نهایی تا اطمینان حاصل شود هرگونه آلودگی از بین رفته است.

این سه مورد باید بکار گرفته شوند تا بتوان به محصولاتی با کیفیت بالا و کاملاً موثر، دست یافت.



پلاسمای آفریزس یا پلاسمای منبع از اهدا کنندگانی جمع آوری می شود که طی یک عملیات، از اهدا کننده گرفته شده و با ضد انعقاد مخلوط گردیده (معمولاً با یک محلول سیترات سدیم ۰.۴٪)، بلافاصله به روش های فیزیکی (سانتریفیوژ کردن، فیلتراسیون و یا

ترکیبی از هر دو روش) جداسازی صورت می گیرد (۶۸) و در حداقل زمان در یک ظرف مناسب (کیسه و یا بطری پلاستیکی) جمع آوری می گردد.

مدت پلازما فرزیس بستگی به تعداد چرخه ها (و بیشتر به حجم پلاسمای جمع آوری شده) بستگی دارد. و از ۳۵ دقیقه تا ۷۰ دقیقه متغیر است. حجم پلاسمای آفرزیس ممکن است از ۴۵۰ الی ۸۸۰ میلی لیتر، بسته به قوانین کشوری و دستورالعمل های جمع آوری متغیر باشد. همچنین، پلاسمای آفرزیس می تواند به عنوان محصول جانبی پلاکت فرزیس (پلاسمای همزمان) تهیه شود. روشی که ابتدا برای جمع آوری پلاکت ها به کار می رفت.

هر دوی پلاسمای بازیابی شده و آفرزیس برای تولید صنعتی کلیه محصولات پلاسمایی مناسب هستند. میزان فاکتورهای انعقادی، به ویژه فاکتور هشت در پلاسمای بازیابی شده به دلایل الف) زمان طولانی قبل از فریز کردن صرف عملیات می شود (خون کامل بایستی طی عملیاتی به سلول های خونی و پلازما جداسازی شود)، ب) نسبت بالای ضد انعقاد و ج) میزان زیاد آلودگی سلولی که ممکن است آنزیم های پروتئولیتیک تاثیر گذار بر پایداری فاکتورهای انعقادی آزاد کنند، کمتر از پلاسمای آفرزیس است.

پلاسمای آفرزیس زمانی که از اهدا کنندگان مختلف جمع آوری می شود، حاوی مقدار کمی ایمونوگلوبولین (IgG) می باشد. ظاهراً سیستم آفرزیس مورد استفاده بر ترکیب های پروتئین و کیفیت پروتئین های پالایش شده تاثیر نمی گذارد، اگر چه میزان سلول باقی مانده بر اساس وسیله جدا کننده متغیر است. (۶۹)

فصل چهارم

روند کاری پالایش پلاسم

به فرآیندی که برای جداسازی پروتئین‌های دارویی پلازما به کار می‌رود، پالایش پلازما گفته می‌شود. از پالایش پلازما ده‌ها فاکتور مختلف به دست می‌آید. روش‌های جدید پالایش پلازما توام با مراحل مختلف صنعتی، جهت جداسازی محصولات دارویی خاص به کار می‌رود. مراحل توام با معتبرسازی، عوامل عفونی موجود در پلازما جمع‌آوری شده را غیر فعال و حذف می‌نماید. این فرآیند صنعتی پیچیده تحت شرایط بهداشتی بالا توسط تجهیزات مجوز دار (مراکز پالایشگاهی پلازما) انجام می‌شود که با پیروی از الزامات عملیات ساخت خوب یا اصول بهینه تولید^{۵۶} (GMP) و تضمین کیفیت انجام می‌گردد.

تولید داروهای زیستی از پلازما، شامل مراحل به هم پیوسته‌ای است که پس از تهیه یک فرآورده، اقدام به تهیه فرآورده بعدی می‌گردد. در ابتدا فاکتورهای انعقادی، سپس ایمونوگلوبولین‌ها و در نهایت آلبومین به دست می‌آید. کیفیت تولید در هر مرحله می‌تواند در مرحله بعدی موثر باشد.

روش‌های مربوط به استفاده از حلال‌های آلی برعکس املاح معدنی، اساس تهیه مشتقات پروتئینی پلازما به مقیاس وسیع هستند. برای ساخت محصول از مشتقات پروتئینی پلازما می‌بایست ابتدا پروتئین‌های محلول در پلازما را به تفکیک با روشی که به نام مبدع آن یعنی کهن شناخته می‌شود، نامحلول ساخته و سپس با تجهیزات و سیستم‌های مختلف اقدام به جداسازی، خالص‌سازی و ویروس‌زدایی کرد و در نهایت فرموله نموده، مطابق استانداردهای جهانی بسته بندی کرد. این فعالیت‌ها نیاز به امکانات، تجهیزات صنعتی و مهم‌تر از همه پرسنل متخصص دارد که در مجموعه‌ای به نام پالایشگاه پلازما یا مرکز پالایش پلازما گردآوری و فعالیت می‌نمایند.

بعد از دهه‌ها تلاش و کوشش، پالایش پلازما از فعالیت‌های بومی حاصل از نیازهای منطقه‌ای به عملیات صنعتی جهانی با استانداردهای منظم تبدیل شده است. این الزامات سخت‌گیرانه از جمع‌آوری پلازما برای پالایش شروع شده و به مراحل تولید و توزیع رسیده ختم می‌گردد. در سالیان اخیر، پیچیدگی عملیات پالایش به وسیله موارد زیر افزایش پیدا کرده است:

- ✓ جدا سازی پروتئین‌های جدید از فراکشن‌های موجود مثل رسوب کرایو، پلاسمای فاقد کرایو و فراکشن‌های مختلف
- ✓ ورود کروماتوگرافی به فرآیند پالایش اتانول که باعث افزایش کیفیت فرآورده‌ها شده است
- ✓ استفاده از مراحل غیرفعال‌سازی و یا حذف ویروسی

فرآیند تبدیل پلازما به محصولات مختلف شبیه به پالایش نفت خام به محصولات مختلف آن است. این تشابه به خوبی توسط Bumouf در یک مقاله، به نام اقتصاد پالایش پلازما ارائه شده است (۷۰) همانند تصفیه نفت، مشتقات مختلف از پلازما به دست می‌آیند و برای عملیات دیگر هدایت می‌شوند. صنعت نفت را می‌توان به چهار تکنولوژی مجزا تقسیم کرد: (۷۱)

✓ استخراج نفت خام

✓ انتقال آن به پالایشگاه

✓ فرآیند پالایش

✓ فروش

چنین تقسیم‌بندی در صنعت پالایش پلازما نیز وجود دارد و شامل تهیه پلازما در مراکز اهدا خون، فرآیند حمل و نقل توسط زنجیره سرد تا فرآیند پالایش، توزیع و فروش می‌باشد.

روش‌های متنوعی جهت جداسازی پروتئین‌ها و خالص‌سازی آن‌ها ابداع و بکار گرفته می‌شود. از این روش‌ها می‌توان به رسوب به کمک اتانول سرد (روش کُهن)، استفاده از املاح معدنی (مانند سولفات آمونیوم و سولفات سدیم)، کروماتوگرافی (مانند کروماتوگرافی بر روی ستون، تعویض‌کننده‌های یونی، ژل‌فیلتراسیون، کروماتوگرافی جذبی و کروماتوگرافی میل ترکیبی آنتی‌بادی مونوکلونال)، استفاده از مواد آلی (مانند رسوب با ریوانل و اسید کاپریلیک)، بهره‌گیری از پلی‌مرهای محلول (مانند پلی‌اتیلن گلیکول) و الکتروفرز اشاره کرد.

در روش صنعتی پالایش پلازما، کیسه‌های پلازما (برای یک سری تولید ۲۰۰۰ الی ۴۰۰۰ لیتری) تحت شرایط بهداشتی باز شده و در تانک استیل مخصوص مجهز به هم‌زن ریخته می‌شوند تا در دمای ۱ درجه تا ۴ درجه سانتی‌گراد پلازماهای منجمد ذوب و خرد شوند. با استفاده از سانتریفیوژهای یخچال‌دار در دمای منفی ۳۰ درجه سانتی‌گراد و یا سردتر روند جداسازی اجزای مختلف پلازما صورت می‌گیرد. برای به دست آوردن برخی فاکتورهای انعقادی (مثل کمپلکس فاکتور IX و ترکیب‌های آن)، ممانعت‌کننده‌های پروتئازی مثل آنتی ترومبین III و مهارکننده استراز C1، پلاسمای فاقد کرایو بلافاصله از کروماتوگرافی عبور داده می‌شود. در طی عملیات پالایش، غلظت الکترولیت از صفر درصد شروع و نهایتاً تا ۴۰ درصد افزایش می‌یابد و pH از خنثی به اسیدی و تا ۴/۸ تغییر می‌کند و دمای محیط عملیات نیز تا ۵- درجه سانتی‌گراد کاهش می‌یابد.

پالایش پلازما به روش گهن، روش جداسازی به وسیله الککل یا جداسازی به وسیله الککل سرد^{۵۷} نیز نامیده می شود و پنج مرحله‌ی کاری دارد و در هر مرحله، محصولات آن مرحله رسوب کرده و جدا سازی می شود. آلبومین که یک پروتئین با وزن ملکولی پایین است، بیشترین حلالیت و کمترین نقطه ایزو الکتریک را دارد و آخرین محصولی است که رسوب داده می شود یا از فاز مایع استخراج می شود.

مراحل ساخت به منظور جداسازی فراکشن‌های مختلف به صورت مداوم و یکپارچه اجرا می شود. هر مرحله یک محصول واسطه تولید می کند که بعداً "تبدیل به محصول نهایی می شود که می تواند به بیماران تجویز شوند. در انتها اتانول بوسیله روش انجماد-خشک کردن^{۵۸} یا اولترافیلتراسیون جدا می شود و دوباره بازیافت می گردد.

پیش از اضافه شدن اتانول به پلازما، پروتئین‌های قابل رسوب در سرما در شرایط سرد جدا می شوند: پلاسمای منجمد تازه (FFP) به آرامی در شرایط سرما خرد و ذوب می شود تا رسوب کرایو که سرشار از فیبرینوژن، فاکتور VIII، فاکتور فون ویلبراند، فاکتور XIII و فیبرونکتین است جدا گردد. چندین فاکتور انعقادی دیگر مانند فاکتور IX و مهار کننده‌های پروتئاز (به عنوان مثال: مهار کننده C1 استراز) ممکن است پیش از ادامه فرایند (مرحله پس از جدا کردن کرایو) بوسیله فرآیند پالایش جهت بهره برداری در بیشترین حد ممکن، توسط کروماتوگرافی جدا شوند.

پنج متغیر در محلولیت افتراقی پروتئین‌ها در مخلوط آب-الکل مورد استفاده قرار می گیرد:

✓ تغییر غلظت اتانول از محدوده ۸٪ تا ۴۰٪

✓ مقایر pH از محدوده ۴/۵ تا ۷/۴

✓ درجه حرارت از محدوده ۵- تا ۷- درجه سانتی گراد

✓ تغییر قدرت یونی از ۰/۱۴ تا ۰/۰۱

✓ غلظت‌های پروتئین از ۵/۱٪ در شروع تا ۰/۸٪ در مراحل بعدی فرآیند

پس از جداسازی مشتق شده از پلازما در محل‌های کنترل شده و محیط‌های آسپتیک^{۵۹} که به صورت اتاق تمیز با خلوص هوای تعریف شده است، انجام می گیرد. از یک سیستم اتوماتیک جهت پس کردن ویال‌ها و بستن در آن‌ها استفاده می شود.

57 Cold Alcohol Fractionation
58 freeze-drying

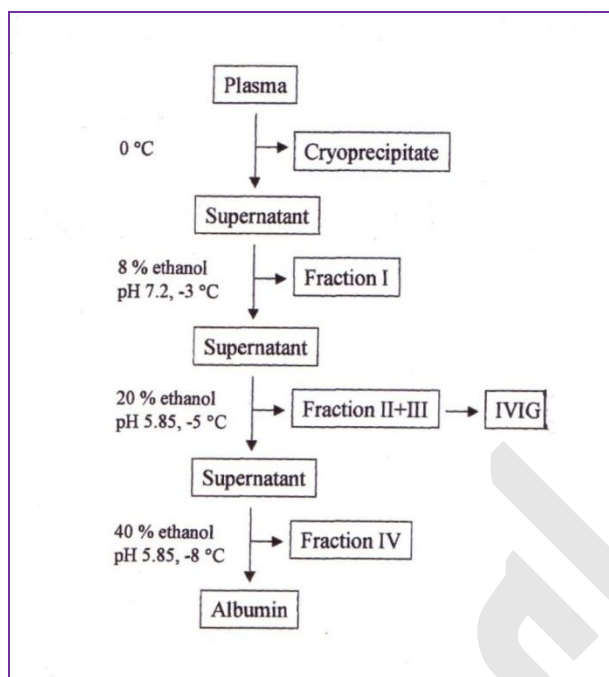
بعضی پروتئین‌ها در مقادیر زیاد در پلاسما ظاهر می‌شوند. به عنوان مثال تقریباً ۴۰ گرم آلبومین در یک لیتر پلاسما وجود دارد. با این حال غلظت پروتئین‌های دیگر، خیلی کم است. به عنوان مثال کمتر از یک میلی گرم فاکتور انعقادی VIII در هر لیتر از پلاسما وجود دارد. مفهوم آن این است که مقدار آلبومین حاصله در طی پالایش پلاسما خیلی زیاده‌تر از مقدار انواع دیگر فاکتورهای انعقادی است.

به طور متوسط ۹ تا ۱۰ هفته طول می‌کشد تا پلاسما به محصول نهایی تبدیل شود و این زمان واقعی مورد نیاز جهت تولید محصول می‌باشد. از آن‌جا که ذخیره پلاسما و مدیریت موجودی کالا نیز باید در نظر گرفته شود. لذا به دلیل انجام اقدامات جلوگیری کننده از آلودگی‌های ویروسی، در نهایت در حدود ۶ ماه طول می‌کشد تا محصولات پلاسمایی قابل دسترس باشند.

در طی اولین مرحله از روند پالایش، سه محصول انعقادی خون به دست می‌آید که شامل فاکتورهای انعقادی VIII و IX و کمپلکس پروترومبین می‌باشند. ذوب آرام پلاسما در یک درجه حرارت دقیق بالای نقطه ی انجماد، تولید کرایو پرسی‌پیتیت می‌کند. کرایو پرسی‌پیتیت^{۶۰} شامل تعدادی پروتئین‌های انعقادی، از جمله فاکتور انعقادی VIII می‌باشد. این پروتئین اولین محصول به‌دست آمده از پالایش پلاسما است. این فاکتور انعقادی جزء اصلی از مجموعه فاکتورهای انعقادی است که همراه با پلاکت‌های خونی نقش کلیدی را در روند انعقادی خون بازی می‌کنند و میزان از دست دادن خون، ناشی از حوادث منجر به خونریزی را محدود می‌کند.

بعد از جدا سازی رسوب کرایو، محلول باقی مانده بنام پلاسمای فاقد کرایو^{۶۱} نامیده می‌شود که از آن فاکتور IX انعقادی به دست می‌آید. در مرحله بعدی پالایش پلاسما، مهار کننده‌های پروتئاز با غلظت بالا حاصل می‌شود. این پروتئین‌ها قادرند تا آنزیم‌های پروتئاز (آنزیم‌های تجزیه کننده پروتئین) که در طی پروسه انعقاد، تجمع پلاکت‌های خونی و فعالیت سیستم کمپلمان آزاد می‌شوند را مهار کنند. مهار کننده‌های پروتئاز از کاهش عملکرد این پروسه‌ها ممانعت می‌کنند. در مراحل ثانویه در پروسه پالایش پلاسما، ایمونوگلوبولین و آلبومین به ترتیب تولید می‌شوند.

59 Aseptic
60 Cryoprecipitate
61 cryo-poor plasma



مراحل پالایش پلاسما در تهیه فرآورده‌های پلاسمایی

تمامی فرآورده‌های پلاسمایی از مخازن پلاسمایی با روش‌های گوناگون تهیه می‌شوند. احتمال آلودگی مخازن پلاسمایی به ویروس‌های مختلف، همیشه وجود دارد. روش‌هایی مانند استفاده از حرارت خشک و مرطوب، فن آوری حلال/شوینده (S/D)، پاستوریزاسیون، نانو فیلتراسیون، انکوباسیون در pH اسیدی و استفاده از بتا پروپیولاکتون به همراه یا بدون اشعه UV برای کاهش خطر انتقال ویروس‌ها توسط فرآورده‌های پلاسمایی به کار گرفته می‌شوند.

یکی از تغییرات اساسی در استخراج پروتئین‌های پلاسما به کشف دانشمند امریکایی judit pol مربوط می‌شود. او متوجه شد که اگر پلاسمای منجمد در دمای نزدیک به نقطه انجماد ذوب شود، رسوبی تشکیل می‌دهد که حاوی مقدار قابل توجهی فاکتور VIII است. این کشف یعنی کرایوپرسی پیتیت در پلاسما، در دسترسی بیماران هموفیلی به فاکتور VIII تحول بزرگی ایجاد کرد و محصول اصلی پالایش پلاسما که تا آن زمان آلبومین بود، جای خود را به فاکتورهای انعقادی داد.

در دهه‌های اخیر محققین و متخصصین در پالایشگاه‌های پلازما توانسته‌اند به پیشرفت‌های مهمی در زمینه فرآیندهای جداسازی و تخلیص پلازما نائل آیند که منجر به افزایش قابل توجه در بازدهی^{۶۲} تولید، ایمنی داروها از نظر عفونت‌های ویروسی و همچنین درجه خلوص شده است. این پیشرفت‌ها حاصل پردازش روش‌های معمول پالایش با الکل و افزودن مراحل کروماتوگرافی اختصاصی است که نتیجه آن تهیه تولیدات درمانی جدید با درجه خلوص بالاتر بوده است. نتیجه کاربرد این فن‌آوری‌ها استفاده بهتر و منطقی‌تر از پلاسمای انسانی و همچنین بهبود صرفه اقتصادی صنعت پالایش بوده است.

در مقایسه با بیوتکنولوژی صنعتی امروزی، روش‌های سنتی برای پالایش پلازما، به نظر کاملاً ابتدایی می‌آیند. با وجود این، بایستی توجه داشت که روش پالایش کهن، زمینه ساز ارتقاء تکنولوژی‌های پالایشی اخیر مورد استفاده برای بیوتکنولوژی تجاری قرن ۲۱ بوده است.

رسوب گیری	تخلیص پروتئین و پالایش
سانتریفیوژ نمودن یا سرعت کم در حجم زیاد	جداسازی جامد از مایع
فیلتراسیون در حجم زیاد	
اولترافیلتراسیون	جداسازی جامد از مایع
(مثلاً: استفاده از غشاهای $100 - 3 \text{ kDa}$)	حذف اجزاء با وزن مولکولی کم (اتانل و نمک) و غلیظ نمودن پروتئین‌ها
دیالیز	تنظیم بافرها
فیلتراسیون استریل یا فیلترهای 0.22 mm	حذف باکتری
کروماتوگرافی (مانند: تمویض یون، میل ترکیبی و جداسازی بر حسب اندازه مولکولی)	تخلیص پروتئین و پالایش
عملیات ویروس زدایی (مانند: اتکلیاسیون یا مواد شیمیایی و حرارتی)	از بین بردن عفونت‌زایی ویروس‌ها
نانوفیلتراسیون (nanofiltration)	حذف آلودگی ویروسی
تقسیم دارودر شرایط غازی از میکروپ	تقسیم محصول نهایی استریل شده در شیشه‌های دارو یا سرنگ
لیوفیلیزاسیون	پایدار نمودن پروتئین به وسیله "لیوفیلیزاسیون"
اتوکلاو	استریل نمودن تجهیزات

روند تهیه فرآورده‌های پلاسمایی

تجهیزات پالایش پلاسما

فرآیند صنعتی پالایش پلاسما باید تحت شرایط بهداشتی بسیار در تجهیزات (استقرار پالایش پلاسما) منطبق با اصول GMP اجرا گردد. امکانات باید دارای مجوز باشند و به طور منظم از سوی مقامات مسئول نظارتی مورد بازرسی نظارتی قرار گیرند، همچنین ارائه مجوز بازاریابی برای محصولات الزامی است. در هر مرکز دارویی، برخی از جنبه‌ها مهم است که غالباً باید در طراحی و بهره برداری از یک کارخانه پالایش پلاسما وجود داشته باشد. توجه خاص GMP با توجه به ماهیت بیولوژیکی و فرآیند تولید این محصولات بر این واقعیت استوار است که مجموع پلاسماهای خام، ماده مورد نیاز برای تولید طیف وسیعی از مشتقات است. (۷۲)

این به معنی این است، برای مثال، طراحی دقیق تاسیسات برای اطمینان از روند منطقی در مورد محصولات، کارکنان، مواد زائد و غیره، برای جلوگیری از خطرات ناشی از آلودگی‌های متقاطع، به ویژه پس از ویروس زدایی است. در پالایش ترجیحاً باید نواحی خاصی برای ویروس‌زدایی در انتهای مراحل، اختصاص داده شده باشد. عدم امکان برای عقیم سازی نهایی آلودگی باکتریایی در محصولات پروتئینی به دلیل احتمال دناتوراسیون^{۶۳} آن‌ها، نظارت دقیق بر فیلتراسیون آسپتیک و مراحل مربوط به فرآیند پالایش را ایجاب می‌کند.

تولید آلبومین به روش اتانول سرد/گهن

روش‌های متعددی جهت خالص‌سازی آلبومین از پلاسمای انسانی پیشنهاد گردیده است که این روش‌ها مبتنی بر خواص فیزیکوشیمیایی و بیولوژی آن می‌باشد. از مهم‌ترین خواص آلبومین از نظر خالص‌سازی می‌توان از بار منفی آن در pH فیزیولوژیک و هیدروفیل بودن که حلالیت زیادی در آب به آن می‌بخشد یاد نمود. از جمله روش‌های پیشنهادی، استفاده از ریوانول-آمونوم سولفات جهت رسوب دادن آلبومین است. اساس روش مبتنی بر رسوب دادن بوسیله ریوانول و اضافه نمودن سدیم کلراید ۰.۵٪ و بازیابی ریوانول بوسیله دغال فعال و مرحله بعدی خالص‌سازی آلبومین بوسیله رسوب دادن با محلول‌های آمونوم سولفات می‌باشد. روش دیگر استفاده از دی اتیل اتر به عنوان رسوب دهنده پروتئین می‌باشد که به علت شدیداً آتش‌گیر بودن این ترکیب، از این روش

زیاد استفاده نمی‌شود. از روش‌های دیگر می‌توان به استفاده از پلی‌اتیلن گلیکول^{۶۴} (PEG) اشاره نمود. بیشتر این روش‌ها به همراه استفاده از اتانول سرد مورد استفاده قرار می‌گیرند. روش دیگری که اخیراً مورد استفاده قرار گرفته، کروماتوگرافی تبادل یونی و رسوب دادن با PEG می‌باشد که در این روش از PEG 6000 و سفاروز استفاده می‌شود.

برای تولید یک فرآورده که دارای مصرف کلینیکی می‌باشد خلوص آن دارو باید متناسب با کاربرد آن باشد. لذا در تولید این گونه فرآورده‌ها خلوص مطلق موردنظر نمی‌باشد، بلکه باید محصول مطابق با استانداردهای موجود باشد و نیز بتوان روشی اتخاذ نمود که تولید انبوه را امکان‌پذیر سازد. روشی که در پالایشگاه پلازما جهت تولید آلبومین بکار می‌رود استفاده از اتانول سرد جهت جداسازی آلبومین و استفاده از اولترافیلتراسیون به منظور جداسازی الکل و تغلیظ آلبومین جهت فرمولاسیون است.

پلاسمای مورد استفاده، پلاسمای منجمد تازه (FFP) می‌باشد، اتانول مصرفی از نوع تجاری با خلوص ۹۴ تا ۹۶ درصد است، مواد شیمیایی مصرفی شامل سدیم استات، استیک اسید گلاسیال ۱۰۰٪، سدیم کلراید، سدیم هیدروکساید و اکتانویک اسید می‌باشد که همه Analytical grade می‌باشند. آب مصرفی در طول پروسه، آب مقطر دیونیزه فاقد پیروژن^{۶۵} (PWF) است.

بافر استات مورد مصرف در طی فرآیند دارای pH=4 بوده و طبق روش کهن (فرمول زیر) تهیه می‌گردد:

اسید استیک CH_3COOH + استات سدیم CH_3COONa

۴۳۵۶ گرم استات سدیم + ۹۱۵۰ سی‌سی اسید استیک + ۴۰ لیتر آب مقطر

در این حالت، بافر در بهترین شرایط ظرفیت بافری است و اگر ۱ سی‌سی از آن را با ۸۰ سی‌سی آب مقطر مخلوط کنیم، باز هم pH در ۴ باقی می‌ماند.

جداسازی آلبومین

پلاسمای منجمد تازه (FFP) انسانی در تانک مخصوص، خرد و ذوب گردیده^{۶۶}، سانتریفوژ می‌شود که رسوب حاصل شامل کرایوپرسی‌پتیتیت می‌باشد. بافر استات تهیه شده به محلول حاصله (Super) جهت تنظیم pH حدود ۶/۹ اضافه می‌گردد. همچنین جهت گرفتن فاکتور IX ژل سفادکس اضافه می‌شود. پس از سانتریفوژ، pH محلول روئی به دست آمده توسط بافر استات تنظیم می‌گردد و میزان الکل سوپر I و pH محلول تنظیم گردیده و پس از ۱۰ ساعت فراکشن و سوپر I + II حاصل می‌شود که این فراکشن جهت تهیه گاماگلوبولین‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد.

در مرحله بعدی Super حاصله (I+II) سانتریفوژ شده و محلول حاصله توسط فیلتر "پرس کارلسون ۴۰×۴۰ سانتی‌متر" فیلتر می‌گردد و فراکشن IV شامل α و β گلوبولین، سرولوپلاسمین، هاپتوگلوبولین و ترانسفرین، همچنین سوپر IV حاصل می‌شود. پس از سانتریفوژ کردن سوپر IV، فراکشن V+VI شامل آلبومین و سوپر دارای آب و الکل به دست می‌آید که این محلول آب و الکل به دست آمده مجدداً بازیابی می‌گردد. در جدول ۲ فراکشن‌های حاصله در فرآیند کهن آورده شده است.

جدول ۲) فراکشن‌ها و پروتئین‌های به دست آمده در مراحل مختلف پالایش پلازما به روش کهن

فراکشن	محدوده مقادیر	پروتئین‌ها
I	5-10%	فیبرینوژن، فاکتور ۸، فیبرونکتین، فاکتورهای کمپلمان C1q, C1r, C1s
II+III	25%	IgA, IgG, IgM و فاکتورهای II, VII, IX, X و β گلوبولین‌ها
IV-1	5-10%	IgM، آنتی ترومبین III، آلفا یک آنتی تریپسین، α و β گلوبولین‌ها
IV-4	5-10%	ترانسفرین، سرولوپلاسمین، هاپتوگلوبولین، گلوبولین‌های α و β
V	50-60%	آلبومین، گلوبولین‌های α و β

جهت فرمولاسیون آلبومین ۵٪ از خمیر V+VI استفاده می‌شود، ولی جهت تهیه آلبومین ۲۰٪، خمیر V از VI جدا می‌گردد. خمیر V+VI در ۶/۵ برابر وزنی آب مقطر حل گردیده، سانتریفیوژ گشته و فراکسیون VI جدا می‌شود. سپس سوپر حاصله سانتریفیوژ می‌گردد و فراکشن V که جهت فرمولاسیون آلبومین ۲۰٪ بکار می‌رود به دست می‌آید.

استفاده از اتانل جهت جداسازی فراکشن‌های مختلف در فرآیند پالایش پلازما به روش کهن چند ویژگی خاص دارد، اول این که با وجود الکل، رشد باکتری بسیار کاهش پیدا می‌کند و دیگر اینکه به سهولت با تبخیر قابل جداسازی است. اتانل چون یک آب گیر قوی است، در پروسه تولید عمل آب گیری را انجام داده و باعث رسوب بهتر فراکشن‌ها می‌شود، همچنین در مواقعی که نیاز به پائین آمدن دما تا حد زیر صفر می‌باشد، اتانول به عنوان یک مبرد داخلی عمل کرده و دمای پلازما یا سوپرهای مختلف حاصله را پائین می‌آورد. عوامل مختلف موثر در مراحل مختلف پالایش پلازما به روش کهن در جدول ۳ دیده می‌شوند.

جدول ۳) مختلف موثر در مراحل مختلف پالایش پلازما به روش کهن

پلازما	درجه حرارت	pH	اتانول	"Cohn"
فراکشن I	-۳	۷/۲۰	۸٪	
فراکشن II+III	-۵	۶/۹۰	۲۵٪	
فراکشن IV	-۵	۵/۸۰	۴۰٪	
فراکشن V+VI	-۵	۴/۸۰	۴۰٪	
فراکشن V	-۵	۵/۲۰	۴۰٪	

در متد کهن برای پائین آوردن دمای خارجی تجهیزات مانند سانتریفیوژها از متانول استفاده می‌گردد. لازم به ذکر است مقدار اتانول مقدار نیاز برای هر مرحله با استفاده از فرمول زیر به دست می‌آید:

$$\text{مقدار الکلی که باید به محیط افزوده شود} = \text{حجم اولیه سوپر یا پلازما} \times \frac{\text{درصد الکل قدیم} - \text{درصد الکل جدید}}{\text{درصد الکل جدید} - \text{درجه الکل مصرفی}}$$

فرمولاسیون آلبومین

جهت فرمولاسیون آلبومین ۵٪ از خمیر V+VI و آلبومین ۲۰٪ از خمیر V استفاده می‌گردد. در هر دو حالت، خمیر در دو برابر وزنی آب مقطر حل می‌گردد. جهت اجتناب از آلودگی باکتریایی در pH حدود ۴/۷ پروسه فرمولاسیون شروع می‌شود. ابتدا محلول توسط فیلترهای مختلف و تحت فشار، فیلتر شده و محلول پروتئینی با غلظت ۱۰٪ جهت اولترافیلتر به‌دست می‌آید.

اولترافیلتراسیون

دمای محلول پروتئینی به‌دست آمده در تانک در ۲۰ درجه سانتی‌گراد توسط مدار متانول اتیلن گلیکول ثابت نگه داشته می‌شود و با افزودن ۶ حجم آب مقطر، اولترافیلتراسیون در ۵/۰ بار فشار صورت می‌گیرد و پس از جداسازی الکل و املاح، عمل تغلیظ توسط اولترافیلتراسیون ادامه می‌یابد.

فرمولاسیون اولیه

پس از اتمام اولترافیلتراسیون، محلول نگه دارنده^{۶۷} لازم که "سدیم کاپرلات" می‌باشد و از واکنش کاپریلیک اسید (= اکتانویک اسید) و سدیم هیدروکسید به‌دست می‌آید به محلول اضافه شود. جهت آلبومین ۲۰٪ از غلظت 0.03 M و جهت آلبومین ۵٪ از غلظت 15 MM آن استفاده می‌گردد و pH محلول در این مرحله توسط سدیم هیدروکسید به ۶/۹ افزایش داده می‌شود.

فرمولاسیون نهایی

پس از اندازه‌گیری میزان پروتئین کل و آلبومین و سدیم و پتاسیم توسط دستگاه‌های اسپکتروفتومتر و فلیم فتومتر، مقدار پروتئین و سدیم با افزودن آب مقطر و محلول سدیم کلراید تنظیم می‌گردد. میزان سدیم در آلبومین ۵٪ حداکثر ۱۴۵ میلی‌مول در لیتر و در آلبومین ۲۰٪ حداکثر ۱۲۰ میلی‌مول در لیتر تنظیم می‌گردد.

فیلتراسیون استریل

فیلتراسیون توسط فیلتر ذغالی AKS-4 که جهت جذب پروتئین‌های ناخواسته دارای سطوح فعال می‌باشد و فیلتر FKS، صورت می‌گیرد و سپس محلول توسط فیلتر کارتریج میلی‌پور ۱/۲ میکرون و در نهایت توسط فیلتر استریل کارتریج میلی‌پور ۰/۲۲ میکرون تحت فشار ۰.۴ بار فیلتر می‌گردد.

پاستوریزاسیون

پاستوریزاسیون آلبومین می‌تواند در بن ماری و یا کابینت هوای گرم که به خوبی هوا در آن در گردش باشد، صورت گیرد. باید توجه داشت که پاستوریزاسیون در درجه حرارت دقیقاً یکنواختی انجام پذیرد. آلبومین تهیه شده در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد (۵/۶۰- ۵/۵۹) به مدت ده ساعت پاستوریزه گردیده، به مدت دو هفته در ۳۲ درجه سانتی‌گراد نگهداری می‌گردد که به آن مرحله نکوباسیون می‌گویند.

پس از گذشت این مدت، نمونه‌های مختلف جهت انجام آزمایش‌های به آزمایشگاه‌های بخش کنترل کیفی مانند آزمایشگاه‌های بیوشیمی، میکروبیولوژی، ویروس‌شناسی، سرولوژی و انعقاد ارسال می‌گردد. در ضمن جهت بررسی پیروژنیسیته نمونه‌ها به بخش آزمایشگاه بیولوژیک ارسال می‌شود و جهت بررسی وجود یا عدم وجود فعالیت پیروژنی یا تب‌زائی به حیوانات آزمایشگاهی تزریق می‌گردد. پس از حصول اطمینان از محصول تولید شده و دریافت پاسخ از آزمایشگاه‌های مختلف، فرآورده، جهت انجام بسته‌بندی و صدور آماده می‌گردد.

به علت غلظت بالای آلبومین در پلازما، منطقی‌ترین راه جهت جداسازی این پروتئین پیدا کردن بهترین شرایط از لحاظ pH و غلظت اتانول و قدرت یونی می‌باشد که منجر به اختلاف زیاد حلالیت آن با دیگر پروتئین‌ها پلازما می‌گردد و جداسازی آن را به کمک رسوب دادن ممکن می‌سازد.

در فرمولاسیون، مشکل آلودگی باکتریایی ممکن است در بعضی از بچ‌ها مشاهده شود که یکی از دلایل احتمالی این رخداد تنظیم pH اولیه در حدود ۶/۵ است. این عمل می‌تواند با توجه به طولانی بودن پروسه، شرایط ایجاد رشد باکتریایی را فراهم سازد. با تغییر

این pH در حدود ۴/۷ در شروع پروسه و تنظیم pH نهائی در ۶/۹ (بلافاصله قبل از فیلتر استریل) با توجه به اسیدی بودن pH محیط، در طول پروسه فرمولاسیون، امکان آلودگی باکتریایی از بین می‌رود.

در گذشته جهت جداسازی اتانول و آب از محلول پروتئینی از دستگاه "سنتزی ترم" استفاده می‌گردید که این دستگاه امکان تبخیر اتانول را در درجه حرارت حدود ۶۰ درجه سانتی‌گراد و فشار منفی ممکن می‌ساخت، ولی یکی از بهترین روش‌هایی که امکان جداسازی را برای حجم‌های زیاد امکان‌پذیر می‌سازد، استفاده از اولترا فیلتراسیون است که قادر به جداسازی حلال و نمک‌ها می‌باشد. این روش مواد محلول و معلق را بر اساس عبور از فیلترهای بسیار ریز جدا می‌سازد که می‌توان از آن به عنوان الک مولکولی نیز یاد نمود که مولکول‌های بزرگتر از اندازه سوراخ‌های فیلتر قادر به عبور نمی‌باشند، جهت اولترافیلتراسیون آلبومین غشاءهایی با محدودیت جهت مولکول‌های با وزن مولکولی ۵۰۰۰ تا ۳۰۰۰۰ دالتون مناسب است و بقیه مولکول‌های بزرگتر قابل عبور نمی‌باشند.

در فرمولاسیون آلبومین به منظور جلوگیری از دناتوره شدن حرارتی آلبومین، از نگه دارنده استفاده می‌گردد. دناتوره شدن حرارتی آلبومین می‌تواند در حین پاستوریزاسیون (که به منظور غیرفعال نمودن ویروس‌هایی مانند هپاتیت B، هپاتیت C و HIV صورت می‌گیرد) رخ می‌دهد. معمولاً از سدیم اکتانویک (کاپریلیت) و سدیم N-استیل تریپتوفانیت با غلظت مساوی به عنوان نگه دارنده استفاده می‌نمایند.

Back wash در مورد دستگاه اولترافیلتر

با استفاده از سیستم Back wash روی اولترافیلتر استفاده مکرر از فیلترها امکان‌پذیر می‌گردد و لذا ضرورت تعویض فیلترها مشاهده نمی‌شود. دستگاه توسط محلول‌های سرم فیزیولوژی و سدیم هیدروکسید ۰/۵ نرمال و ۰/۲ نرمال شسته شده، هر هشت سری ساخت، یک‌بار عمل Back wash توسط آب مقطر و تحت ۳ بار فشار صورت می‌گیرد. با این متد امکان استفاده مجدد از فیلترها نیز میسر می‌گردد.

جلوگیری از دناتوراسیون فرآورده در پروسه تولید

از لحاظ کنترل هرچه بهتر پروسه تولید باید در نظر داشت که حلالیت پروتئین‌ها بوسیله افزایش الکلی یا استن یا دیگر حلال‌های آلی محلول در آب کاهش می‌یابد. این افزایش حلالیت در حرارت معمول باعث دناتوراسیون پروتئین می‌گردد، لذا با کاهش درجه حرارت می‌توان از این دناتوره شدن پروتئین جلوگیری نمود، به این منظور در طول پروسه، درجه حرارت تا منهای ۱۰ درجه سانتی‌گراد کاهش داده می‌شود. عوامل بسیار دیگری می‌تواند در دناتوره شدن پروتئین نقش داشته باشند، از جمله اضافه کردن محلول‌ها در حین فرمولاسیون مانند محلول سدیم هیدروکسید، سدیم کلراید و سدیم کاپرلیت. اگر این محلول‌ها روی سطح محلول آلبومین اضافه گردد چون در یک نقطه باعث تغییرات شدید شرایط شیمیایی می‌شود، باعث دناتوره شدن پروتئین می‌گردد. این مشکل از طریق اضافه کردن محلول‌ها در زیر محلول آلبومین یعنی در عمق تانک برطرف و تقریباً میزان پروتئین دناتوره شده در انتهای پروسه صفر می‌گردد. دیگر عوامل که می‌توانند در دناتوره شدن پروتئین تأثیر داشته باشند، مخلوط نمودن یکنواخت و سرعت افزایش محلول‌ها و شکل ظرف و هم‌زن و همچنین ارتعاشات می‌توانند در دناتوراسیون پروتئین‌ها موثر باشند که باید از این موارد جلوگیری گردد.

فصل پنجم

ویروس زدایی پلا سما و فرآورددهای پلا سمایی

از نکات مهم تولید داروهای مشتق از پلاسما یکی حفظ خواص بیولوژیک دارو است که افزون بر خلوص مناسب، خواص بیولوژیک پروتئین نیز باید حفظ گردد. (۷۳- ۷۴) دیگر با توجه به این که این داروها از پلاسما تهیه می گردند (۷۵) همواره خطر آلودگی ویروسی نیز وجود دارد. از این رو به روش های مختلف باید اطمینان حاصل شود که فرآورده دارویی نهایی دارای حداقل خطر آلودگی ویروسی می باشد (۷۶) بنابراین افزون بر غربالگری باید محصولات دارویی برگرفته از پلاسما مورد ویروس زدایی نیز قرار گیرند. (۷۷- ۷۸ - ۷۹) به عبارت دیگر نه تنها دستیابی به پلاسما و امکان دسترسی همه بیماران نیازمند انتقال خون به آنها مهم است، بلکه بهبود ایمنی خون و فرآورده های آن هم حائز اهمیت فراوان می باشد. (۸۰)

بروز HIV در دهه ۱۹۸۰ اهمیت اطمینان از ایمنی خون را به اندازه تامین کافی خون نشان داد. در اواخر دهه ۱۹۷۰ و اوایل ۱۹۸۰ بیماران هموفیلی شروع به استفاده از فرآورده های جدید برای درمان بیماری خود نمودند. فاکتورهای تغلیظ شده مشتق از پلاسما، این فرآورده های جدید بودند. متأسفانه برخی صنایع داروسازی مواد اولیه خود را از ارزان ترین نوع پلاسما انتخاب کردند تا بتوانند بیشترین محصولات را عرضه نمایند. این فعالیت ها به زودی چالش هایی را در مورد فرآورده های پلاسمایی ایجاد نمود. در طی سالیان ۱۹۸۰ تا ۱۹۹۰ صدها بیمار از طریق خون و فرآورده های خونی مبتلا به عفونت شدند. این مسئله تا آن حد جدی بود که تا ۶۴٪ افراد مبتلا به هموفیلی در برخی کشورهای پیشرفته از راه تزریق فرآورده های خونی مبتلا به HIV گردیدند. (۸۱) در کشور کانادا، ابتلا به HIV و هپاتیت C بزرگترین فاجعه سلامت همگانی در تاریخ این کشور بود. تخمین زده می شود که که تزریق فرآورده های آلوده، سبب ابتلا بیش از ۱۰۰۰ نفر به HIV و بیشتر از ۳۰۰۰ نفر به هپاتیت C گردید. (۸۲)

علی رغم پیشرفت های مشخص در ایمنی خون و فرآورده های خونی در کشورهای در حال توسعه، هنوز ایمنی و سلامتی خون یک نگرانی برای این کشورها است. در برخی از این کشورها بیشتر خون های اهدایی در مورد HIV، HCV و HBV مورد آزمایش قرار نمی گیرند. در مطالعه ای که بر روی بانک های خون در سال ۲۰۰۰ انجام شد، مشخص گردید که ۸۷٪ خون ها از نظر HBV، ۹۵٪ از نظر HIV و فقط ۶٪ از نظر HCV مورد آزمایش قرار گرفته اند. این گزارش تخمین می زند که بیشتر از ۱۰٪ اشخاص مبتلا به HIV در کشورهای در حال توسعه به وسیله خون یا فرآورده های خونی آلوده به ویروس، مبتلا به این بیماری شده اند. (۸۳)

در سال‌های اخیر همواره احتمال انتقال هیپاتیت C، B 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. (۸۴ - ۸۵) مراحل خالص‌سازی داروهای مشتق از خون مانند مراحل ترسیب و کروماتوگرافی می‌توانند تا حدی باعث حذف پاتوژن‌ها گردد لیکن لازم است که روش‌های ویروس‌زدایی موثر نیز در خط تولید به کار گرفته شود. (۸۶)

به‌منظور ایمن‌سازی داروهای مشتق از خون سه رشته فعالیت می‌تواند صورت گیرد. این سه رشته فعالیت شامل انتخاب اهدا کننده، انجام آزمایش‌ها 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 GMP صورت پذیرد. 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 آزمایش‌های لازم بر روی خون و پلاسمای پولد شده، هنوز احتمال انتقال پاتوژن‌ها و عفونت‌ها از طریق انتقال خون^{۶۸} (TTIs) به‌طور کامل حذف نمی‌شود و لازم است که روش‌های ویروس‌زدایی نیز در جهت تکمیل دو اقدام صورت گرفته، انجام شود. (۸۷) مشخصات برخی از ویروس‌های منتقله از راه خون در جدول ۴ آورده شده است.

جدول ۴) مشخصات برخی از ویروس های منتقله از راه خون

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

میزان ویروس بستگی به تعداد افراد اهدا کننده آلوده که پلاسما ی 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 ۵ آمده است.

جدول ۵) شیوع بعضی ویروس های منتقله از راه انتقال خون در اهداکنندگان پیش از غربالگری

ویروس	شیوع	تیترا 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 ^۴ -۱۰ ^۶
Parvovirus B19	۱/۱۰۰۰-۱/۷۰۰۰	۱۰ ^۳ -۱۰ ^{۱۲}

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 پلاسما ی پولد شده با بیش از ده هزار واحد اهدا، انتظار می رود دارای آلودگی ویروسی HCV و یا پاروویروس B19 باشد.

دوره زمانی پنجره^{۶۹} 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 ۶ دوره پنجره تخمینی برای ویروس های HIV، HCV و HBV را نشان

می‌دهد. در حقیقت دوره پنجره، دوره‌ای است که در آن تیترو ویروسی بالا می‌رود پیش از این‌که آنتی‌بادی خود را در چرخه خون نشان دهد.

جدول ۶) دوره پنجره تخمینی برای ویروس‌های HIV، HCV و HBV

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

با معرفی فناوری NAT^{۷۰} امکان شناسایی بهتر نوکلئیک اسید فراهم گردیده است، چون نوکلئیک اسید به خود ویروس مربوط می‌گردد تا به پاسخ ایمنی میزبان به عفونت. از این‌رو NAT دوره پنجره را به حداقل می‌رساند. انتقاد اصلی که به غربال‌گری 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 می‌گردد، پس غربال‌گری همواره فقط این اطمینان را می‌تواند حاصل نماید که بار ویروسی در میزان حداقل نگه داشته می‌شود و نه این‌که صفر می‌گردد. بنابراین نمی‌تواند اطمینان صددرصدی 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. (۸۸-۸۹)

عوامل عفونی دیگر شامل 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 CJD^{۷۱} باید خیلی دقت به‌عمل آید زیرا تجربه بر روی مدل حیوانی نشان داده عفونت در خون قابل مشاهده است، اگرچه این آلودگی‌ها در سطح پایینی می‌باشد.

70 Nucleic acid testing
71 Creutzfeldt-Jakob disease

روش‌های کاهش بار ویروسی

همواره برخی مراحل پالایش پلاسما به‌منظور تولید فرآورده‌های دارویی مشتق از پلاسما کاهش بار ویروسی را به‌دنبال خواهد داشت لیکن چون این کاهش تیترو ویروسی کمتر از $\log 4$ 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 سانتریفیوژ کردن، پالایش با اتانول، استفاده از پلی اتیلن گلیکول، کاپریلیک اسید و آمونیوم سولفات (به‌منظور ترسیب پروتئین مورد نظر)، همچنین کروماتوگرافی ایمونوآفینیتی 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 تیترو ویروسی بیش از $\log 4$ می‌شود، به‌کار برده شود. (۹۰ - ۹۱)

این روش‌های موثر شامل روش حلال/شوینده (۹۲-۹۳) که در آن محلول پروتئینی در حضور حلال آلی تری-ان-بوتیل فسفات و شوینده تریتون X 100 یا تویین ۸۰ یا سدیم کولیت اینکوبه می‌شود، پاستوریزاسیون (۹۴) که محلول به‌مدت ۱۰ ساعت در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد حرارت داده می‌شود، حرارت خشک (۹۵-۹۶)، حرارت مرطوب (۹۷)، pH اسیدی (۹۸) بتاپروپیولاکتون/پرتو ماوراء بنفش (۹۹) و نانوفیلتراسیون (۱۰۰-۱۰۱) می‌باشند.

جدول ۷ 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.

جدول ۷) 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

در روش‌های ویروس‌زدایی حرارتی، هدف دنا توره کردن پروتیین ویروس می‌باشد و کمتر هدف تاثیر بر روی نوکلئیک اسید ویروس است. در روش حلال/شوینده، تخریب غشاء لیپیدی ویروس مورد نظر است درحالی‌که توسط پرتو و پروپیولاکتون، نوکلئیک اسید ویروس تجزیه می‌گردد. از این‌رو در ویروس‌زدایی فرآورده‌های دارویی مشتق از پلاسما باید از روش‌هایی به‌صورت توأم استفاده نمود که مکمل یکدیگر باشند و اطمینان حاصل گردد 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 انجام آزمایش‌های مختلف بر روی خون‌های اهدایی جهت شناسایی ویروس‌های معمول منتقله از راه انتقال خون و انجام آزمایش PCR^{۷۲} بر روی پلاسمای پولد شده، می‌توان انتظار داشت که ماده اولیه تولید داروهای بیولوژیکی مشتق از پلاسما از ضریب ایمنی نسبی برخوردار باشد.

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 مانند روش حلال/شوینده می‌باشد (۱۰۲-۱۰۳) از روش دیگری مانند روش‌های حرارتی (۱۰۴) یا نانوفیلتراسیون (۱۰۵-۱۰۶) که موثر بر ویروس‌های بدون پوشش باشد، نیز استفاده شود تا ایمنی دارو از لحاظ آلودگی تا میزان بالایی افزایش یابد. (۱۰۷)

جهت کاهش خطر عوامل عفونت زا، انتخاب پلازما از اهدا کننده‌های داوطلب و اهدا کنندگانی که پول دریافت نمی‌کنند، اجباری است. این به ویژه زمانی ممکن است مهم باشد که پلازما از کشورهای مختلف با خصوصیات ایمنی محدود آورده شده باشد. مراکز پالایش پلازما، خط مشی مستثنی کردن اهدا کنندگان داوطلب دارای خطر را از اهدای خون و غربال‌گری خون‌های اهدائی برای محدوده ویروس‌های ناشی از خون دنبال می‌کنند.

روش‌های غیر فعال سازی ویروسی در حین تولید

روش حلال شوینده (SD) در اواسط دهه ۱۹۸۰ ابداع شد (۱۰۸) و به عنوان معمول ترین روش غیر فعال سازی ویروسی محصولات پلاسمایی محسوب می‌گردد. محلول‌های پروتئینی به مدت ۴ الی ۶ ساعت در ۲۴ الی ۲۷ درجه سانتی‌گراد در حضور ۰/۳٪ الی ۱٪ تری آن بوتیل فسفات (TnBP) و ۱٪ توین ۸۰ و یا تریتون X-100 انکوبه می‌شوند. به طور عادی، ویروس‌های دارای پوشش لیپیدی در عرض چند دقیقه غیرفعال می‌شوند و فعالیت عملی اکثر پروتئین‌های حساس پلازما به استثنای بعضی از ممانعت کننده‌های سرین پروتئازی به خوبی محافظت می‌گردد، ویروس‌های فاقد پوشش (که اکثراً برای انسان کمتر بیماری زا هستند) با این روش غیرفعال نمی‌گردند. به وسیله جذب کروماتوگرافی و یا رسوب دادن پروتئین‌ها و یا جذب انتخابی در روی پشتیبان کروماتوگرافی آب گریز، معرف‌های حلال شوینده تا سطح مقادیر ناچیز در میلیون خارج می‌شوند.

پاستوریزاسیون دیگر روش معمول غیر فعال‌سازی ویروس می‌باشد که در آن از حرارت دادن محلول‌های پروتئینی به مدت ۱۰ ساعت در ۶۰ درجه سانتی‌گراد استفاده می‌شود که این عمل باعث انهدام پروتئین‌های ویروسی شده و در نتیجه، مانع تکثیر ویروس‌ها می‌گردد. (۱۰۹) پاستوریزاسیون می‌تواند هم ویروس‌های پوشش دار و هم ویروس‌های فاقد پوشش را غیرفعال نماید، اما مواد پایدار کننده که برای ممانعت از کاهش فعالیت پروتئین‌ها مورد نیاز هستند ممکن است سرعت و شدت غیر فعال‌سازی ویروس را کاهش دهند. (۱۱۰) مواد پایدار کننده را به وسیله فیلتراسیون، رسوب دادن پروتئین‌ها و یا کروماتوگرافی از محیط خارج می‌کنند. شدت غیر فعال‌سازی ویروسی با دما، زمان و فشار تغییر می‌کند. وقتی از روش غیر فعال‌سازی بر اساس حرارت استفاده می‌شود، احتمال تشکیل آنتی ژن‌های جدید که می‌توانند ایمونوژنیسیته پروتئین را افزایش دهند، ممکن است ملاحظه گردد.

در اوایل دهه ۱۹۸۰ فرآیند انکوباسیون pH پایین (معمولاً در pH ۴) در دمای ۳۰ الی ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت بیش از ۲۰ ساعت معرفی شد که اجازه تزریق داخل رگی ایمونوگلوبولین IgG انسانی را می دهد. این روش غیر فعال سازی باعث غیر فعال شدن اکثر ویروس های دارای پوشش لیپیدی می شود.

روش انکوباسیون و رسوب دادن اسید کاپریلیک (اکتانوئیک) در pH کمتر از ۶ روشی است که اخیراً برای ایمونوگلوبولین IgG انسانی معرفی شده است در این روش ویروس های دارای پوشش لیپیدی غیر فعال می گردند. (۱۱)

روش غیر فعال سازی ویروسی پس از تولید

در پالایش مدرن پلازما، از روش حرارت (حرارت خشک) برای محصولات لیوفیلیزه استفاده می شود. این روش برای فاکتورهای انعقادی به کار می رود. در این روش در حضور پایدار کننده های پروتئین^{۷۳} محصول به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۸۰ درجه سانتی گراد و یا ۳۰ دقیقه در دمای ۱۰۰ درجه سانتی گراد قرار داده می شود. با این روش ایمنی و سلامت محصول بر علیه HAV و ویروس های دیگر حساس به حرارت حاصل می شود، ولی برای حذف ویروس B19 کفایت نمی کند. پاستوریزاسیون (محلول) نهایی به مدت ۱۰ ساعت در ۶۰ درجه سانتی گراد روش "استاندارد طلایی" برای محصولات آلبومین می باشد. اسیدهای چرب، کاپریلات و تریپتوفانات که آلبومین را از دناتوره شدن در اثر حرارت محافظت می کنند در مقادیر سازگار برای مصارف دارویی اضافه می گردند.

حذف ویروس با روش نانوفیلتراسیون

نانوفیلتراسیون، یک روش فیلتراسیون ویروسی خاص می باشد که برای محلول های پروتئینی به کار می رود. در این روش از غشاهای ۱۵ الی ۷۵ نانومتر چند لایه ای و یا سیستم های مشابه استفاده می شود. (۱۱۲) این روش در اواسط دهه ۱۹۹۰ معرفی گردید و برای حذف ویروسی کلیه محصولات به جزء آلبومین مورد قبول واقع شده است. نانوفیلتراسیون به عنوان مکمل روش غیرفعال سازی اصلی به کار می رود و ایمنی بر علیه ویروس های فاقد پوشش و عوامل عفونی مقاوم دیگر را افزایش می دهد. همچنین حذف ویروسی می تواند هنگام رسوب دادن پروتئین ها، کروماتوگرافی و یا در مراحل فیلتراسیون اتفاق بیافتد. در این مراحل میزان ویروس از محصول

پروتئینی کاهش می‌یابد. بررسی این روش‌های ویروس زدایی سخت است بنابر این به عنوان روش‌های مستقل که بتواند ایمنی کافی ایجاد کنند ضمانت اجرایی ندارند.

پریون‌ها

به احتمال بسیار زیاد بیماری CJD^{۷۴} ممکن است از راه تزریق فرآورده‌های خونی منتقل گردد و سبب ایجاد نگرانی‌هایی در مورد ایمنی فرآورده‌های مشتق از پلاسمای مجتمع شده (پولد) می‌شود. (۱۱۳)

مطالعات تجربی متعدد بر روی عفونت‌هایی که بیشتر آن‌ها بر پایه نفوذ مواد عفونی مشتق از مغز به درون اجزای پلاسمایی انجام شده، نشان داده که تعدادی از مراحل پالایش اتانول، فیلتراسیون عمقی "کروماتوگرافی" و نانو فیلتراسیون با غشا چند لایه ۳۵ نانومتری یا کمتر، بیش از ۵-۲ Logs از پریون‌های افزوده شده را حذف می‌نماید. (۱۱۴) باتوجه به این که سطح عفونت زایی پریون در خون احتمالاً کمتر است، نزدیک به ۱۰ واحد عفونی در هر میلی لیتر (۱۱۵) خطر انتقال به‌وسیله فرآورده‌های پلاسمایی انسان ضعیف به نظر می‌رسد. با این حال باید اقدامات پیشگیرانه انجام گردد زیرا ماهیت بیوشیمیایی ماده عفونی در خون انسان شناخته نشده است. (۱۱۶)

واریانت کروتز فیلد جاکوب می‌تواند توسط مواد حاوی گلبول‌های قرمز خون منتقل گردد اما تا به امروز انتقال از طریق پلاسما و یا محصولات پلاسمایی تشخیص داده نشده است. بر اساس طبیعت زیستی پریون‌ها، به نظر می‌رسد که آن‌ها به روش‌های معمول غیر فعال سازی ویروسی مورد استفاده در پالایش پلاسما مقاوم باشند. روش‌های شناخته شده برای غیر فعال سازی پروتئین‌های پریون همراه شده با آنسفالیت‌های اسپونژی فورم مثل اکسیداسیون، استفاده از باز قوی، معرف‌های قوی و دمای بالا، پروتئین‌های پلاسما را نابود می‌کند و در نتیجه نمی‌تواند از آن‌ها استفاده کرد. بنا به مطالعات محصولات پالایشی حاصل از فرآورده‌های جدید به نظر می‌رسد دارای اطمینان کافی در حذف عملی آنسفالیت‌های اسپونژی فورم داشته باشند. (۱۱۷)

پیشرفت در علم ویروس شناسی به پالایش کننده‌های پلاسما کمک می‌کند تا محصولات سالم‌تری تولید کنند. می‌دانیم که ویروس‌های هپاتیت A, B, C، ویروس‌های نیل غربی و ویروس‌های H5N1 خطرناک هستند و نباید در محصولات پلاسمایی وجود

داشته باشند، اما چگونه می‌توانیم عدم وجود آن‌ها را ثابت کنیم؟ پالایش‌کننده‌ها باید قادر باشند تا نمونه خاصی را با ویروس مدل نشان‌دار کنند و پس از طی مراحل تولید، مقدار ویروس خارج شده از نمونه نشان‌دار را تعیین نمایند.

گرچه محصولات ایمونوگلوبولین دارای سابقه عالی ایمنی هستند، قانون‌گذاران اروپائی، انجام مراحل اضافی و موثر کاهش ویروس در فرایند تولید را برای اطمینان از سلامتی آن‌ها، و نیز نانوفیلتراسیون در ابتدای فرایند را توصیه می‌شود. امید می‌رود که چنین الزامات اضافی ایمنی باعث افزایش قیمت محصولات و یا کاهش تاسف انگیز ترکیبات فعال در محصول نهائی، نخواهد شد.

غیرفعال کردن ویروس‌ها در شرکت اکتافارما

بسته به نوع محصول، روش‌های مختلف حذف و یا غیرفعال کردن ویروس‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند. آزمایش اهدا کنندگان و پلازماهای اهدایی فقط می‌تواند ویروس‌های شناخته شده و ویروس‌هایی را که به خاطر آن‌ها غربال‌گری انجام می‌شود، را رد یابی کند. غیرفعال‌سازی ویروس‌ها یک گام جلوتر می‌باشد. نهادهای بین‌المللی مرتبط با حوزه سلامت همگی انجام مضاعف غیرفعال کردن ویروس‌ها را در محصولات پلازمایی، توصیه می‌کنند.

شرکت اکتافارما از چندین روش مختلف معتبر سنجی شده حذف و غیرفعال‌سازی، استفاده می‌کند:

✓ حلال/شوینده (SD)

✓ پاستوریزه کردن

✓ روش حرارت خشک

✓ pH4

✓ نانوفیلتراسیون

روش SD بطور سریع و بازگشت ناپذیر همه ویروس‌های دارای پوشش چربی، مانند HIV, HBV, HCV را غیرفعال می‌کند. استفاده از روش SD با تخریب پوشش چربی و محل‌های مربوط به اتصال ویروس، باعث جلوگیری از آلودگی سلول‌های هدف و تکثیر ویروس‌ها در داخل بدن می‌شود.

پاستوریزاسیون یک روش غیرفعال سازی با طیف وسیع می باشد که DNA یا RNA ویروس های پوشش دار و بدون پوشش را هدف قرار می دهد. در طی روند پاستوریزاسیون، فرآورده ها در شکل مایع و در حضور پایدار کننده ها حرارت داده می شوند. از پاستوریزاسیون برای غیرفعال سازی آلبومین استفاده می شود.

روش حرارت خشک هر دو نوع ویروس های پوشش دار و بدون پوشش را غیرفعال می سازد. اکتافارما از این روش به عنوان مرحله دوم غیرفعال سازی ویروس در تولید Octanate استفاده می کند.

انکوباسیون طولانی در pH ۴ می تواند سبب غیر فعال کردن ویروس های پوشش دار و بدون پوشش گردد. محصول Octagam شرکت اکتافارما یک انکوباسیون ۲۴ ساعته را در pH ۴ تحمل می کند.

نانو فیلتراسیون یک روش معتبر سازی شده برای حذف ویروس های پوشش دار و بدون پوشش است. در مرکز اکتافارما از این روش به عنوان مرحله دوم غیرفعال سازی در تولید Nanotiv و Octanine F استفاده می شود.

علاوه بر این ها، سلامت ویروسی محصولات پلاسمایی بوسیله خنثی سازی ایمنی افزایش داده شده است. از آن جا که محصولات مشتق از پلازما از پلاسماهای مخلوط (pooled) ساخته شده اند، آنتی بادی های اهدا کننده بر علیه عفونت ها در مواد اولیه وجود دارند. این آنتی بادی ها قادر هستند تا با ویروس هایی که به طور بالقوه وارد پلاسمای مخلوط شده اند، ترکیب شده و آن ها را خنثی کنند و بدین ترتیب از تکثیر ویروس در خارج یا داخل بدن جلوگیری کرده، یا آن را محدود نمایند.

معتبر سازی روش های غیرفعال سازی و حذف ویروسی

ویروس های آلوده کننده خون و در پی آن آلوده کننده فرآورده های دارویی مشتق از پلازما می توانند دارای ژنوم DNA یا RNA باشند، که ممکن است دارای پوشش لیپیدی و یا بدون پوشش باشند. اندازه ویروس ها می تواند از کوچکترین اندازه مانند پاروویروس تا متوسط مانند HBV باشد. از این رو روش به کار گرفته شده باید نشان از آن باشد که قادر است حذف و یا غیر فعال سازی ویروسی را بر روی طیف وسیعی از ویروس ها اعمال نماید و مطالعات معتبر سازی بهتر است حداقل بر روی سه ویروس صورت پذیرد تا نشان دهد قابلیت این را دارد که بر روی انواع ویروس ها تاثیر گذار است.

جدول ۸ ویروس‌های محتمل در خون را به همراه ویروس مدل که جهت مطالعه اعتبارسنجی می‌تواند به کار رود را نشان می‌دهد. البته ویروس‌های مدل می‌تواند فقط منحصر به ویروس‌های آورده شده در جدول نباشد.

جدول ۸) 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

لازمه مطالعه اعتبارسنجی، تهیه تیتراژ بالا از ویروس‌های مدل می‌باشد. برای مثال برای ویروس هپاتیت C، ویروس 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 ۴۰ تا ۵۰ نانومتر می‌باشند.

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 تیتراژ 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. (۱۱۸-۱۱۹)

پس از اعمال ویروس‌زدایی بار دیگر تیترو 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. همچنین در مطالعه معتبرسازی 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. (۱۲۰)

فصل ششم

اقتصاد صنعت پلا سما

در حال حاضر صنعت پلاسما و تهیه مشتقات پلاسمایی یکی از سودآورترین عرصه‌های مالی در تجارت بین‌المللی است و از این بابت می‌توان صنعت پلاسما را با صنعت نفت مشابه دانست. از طرف دیگر فرآیندهای پالایش پلاسما و تبدیل آن به فرآورده‌های مختلف نیز بی‌تشابه به پالایش نفت خام و تبدیل به فرآورده‌های مختلف نمی‌باشد. (۱۲۱)

از نظر اقتصادی هزینه یک لیتر پلاسمای با کیفیت که تحت نظارت مراجع ذیصلاح نظارتی قرار گرفته باشد و الزامات کیفی را دارا باشد حدود ۴۵ درصد هزینه محصول تولید شده را تشکیل می‌دهد (۱۲۲) که اگر گران‌ترین ماده خام اولیه در صنایع فارماسیوتیکال و بیوفارماسیوتیکال نباشد، یکی از گران‌ترین مواد خام اولیه برای تولید محصولات در مقیاس بالا است و به همین دلیل به طلای واقعی مایع^{۷۵} لقب گرفته است. (۱۲۳)

قیمت پلاسما به عنوان ماده اولیه نقش مهمی در قیمت مشتقات پلاسمایی بازی می‌کند به طوری که ایمونوگلوبولین تزریقی وریدی ۴۰ درصد، آلبومین ۲۵ درصد، فاکتور VIII ۲۵ درصد و فاکتور IX ۱۰ درصد هزینه یک لیتر پلاسما را به خود اختصاص می‌دهد. اگر چه قیمت نهایی محصول کاملاً به بازده محصول به ازای یک لیتر پلاسما بستگی دارد (۱۲۴) برای شرکت‌های پالایشگر صرفه اقتصادی به ظرفیت تولید، بازده^{۷۶} محصولات و نیز تولید محصولات متنوع پلاسمایی وابسته است زیرا هزینه ماده خام اولیه یعنی پلاسما بسیار بالا است و روش‌های مختلف جهت افزایش بازده، خلوص و یا ایمنی به چرخه‌های ساخت الصاق می‌گردد.

تقاضای جهانی

در حالی که استفاده از خون و به ویژه گلبول‌های قرمز در دنیا تقریباً ۴۰٪ کاهش یافته است (۱۲۵) تقاضای جهانی برای محصولات دارویی مشتق از پلاسما در حال گسترش است، اگر چه دسترسی به این داروها در

75 Real Liquid Gold
76 yield

کشورهای در حال توسعه کافی نمی‌باشد. عدم استقرار الزامات GMP فرآورده‌های دارویی، عدم کفایت سیستم‌های دولتی و سازمانی، فراهم نبودن زیر ساختارها و نبود سیستم‌های فنی از مهمترین دلایل این کمبود به شمار می‌آیند. همچنین پلاسمای بازیافت شده از خون کامل در اکثر کشورهای با درآمد پایین و یا متوسط، الزامات کیفی و سلامتی شناخته شده بین‌المللی را برآورده نمی‌کند و بنابراین برای استفاده در صنعت پلازما نامناسب است. (۱۲۶) عدم وجود الزامات کیفی در پلاسمای بازیافتی منجر به هدر رفتن آن می‌شود و در حالی که محصولات پروتئینی مشتق از پلازما در فهرست داروهای اساسی WHO قرار گرفته است، میزان اتلاف سالانه پلاسمای بازیافتی بیش از ۹ میلیون لیتر تخمین زده شده است. (۱۲۷)

علی‌رغم کاهش استفاده از خون، ادعا می‌شود استفاده از ایمونوگلوبولین‌ها بین سال‌های ۲۰۰۴ تا ۲۰۱۸ سه برابر شده است و این افزایش تا سال ۲۰۲۴ به میزان سالیانه ۷-۵ درصد نیز پیش‌بینی گردیده است. بنابراین برای تامین تقاضای بازار برای این محصول، پرداخت هزینه به اهداکنندگان پولی برای حصول به پلاسمای کافی، ضروری به نظر می‌رسد. (۱۲۸)

در حال روش‌های متفاوتی برای تفکیک مشتقات پلاسمایی بر اساس خواص فیزیکوشیمیایی و بیولوژیکی آن‌ها به کار رفته است. در عین حال روش‌های مختلف ویروس‌زدایی نیز به چرخه‌های ساخت اضافه شده است. استفاده از روش‌های متفاوت می‌تواند باعث ایجاد اختلاف در ویژگی محصول نهایی تهیه شده شود و از همه مهم‌تر می‌تواند در هزینه تمام شده محصول نیز تاثیر گذار باشد. مسئله بسیار مهم در صنعت پلازما این است که از نظر اقتصادی تهیه مشتقات پلاسمایی به شدت تحت تاثیر هزینه تمام شده پلازما قرار می‌گیرد. (۱۲۹)

وضعیت دنیا

با آگاهی روز افزون از اهمیت استراتژیک داروهای مشتق از پلازما در برنامه‌های سلامت عمومی، پالایشگاه‌هایی با بودجه عمومی، اغلب به عنوان شاخه‌های خدمات انتقال خون تاسیس شدند. در طول دهه ۱۹۵۰ تا ۱۹۷۰، این پالایشگاه‌ها به طور فزاینده‌ای در اروپای غربی استرالیا، آفریقای جنوبی و بخش‌هایی از آسیا فعال بودند (۱۳۰) در طول سال‌ها، پیچیدگی فن‌آوری پالایش از جمله ایجاد چندین مرحله تصفیه اضافی و روش‌های غیرفعال‌سازی با حذف پاتوژن (اغلب ویروس‌ها) و یا توسعه محصولات جدید در پاسخ به نیازهای بالینی به طور چشمگیری افزایش یافت. (۱۳۱)

پالایش پلازما می‌تواند هم در پالایشگاه‌های محلی و هم به صورت قراردادی^{۷۷} انجام شود پالایش قراردادی بخشی از فعالیت جداسازی پلازما است که به موجب آن شرکت‌ها خدمات پالایش پلاسمایی خود را به مشتریانی که فاقد کارخانه جهت پالایش هستند، ارائه می‌دهند. این قرارداد ممکن است تحت شرایط مختلفی اتفاق بیفتد که همه آنها توسط یکی از شرکت‌های بزرگ و مطرح دنیا انجام می‌شود (۱۳۲)

بر اساس گزارش انجمن درمانی پروتئین‌های پلازما^{۷۸} آمار رشد جمع‌آوری و پالایش پلازما در ایالات متحده در دهه گذشته از ۱۰ میلیون لیتر در سال ۲۰۰۵ به حدود ۳۸ میلیون لیتر در سال ۲۰۱۶ افزایش یافته است که با نرخ رشد ثابتی در حدود ۲۵ درصد در سال به طور متوسط تکامل می‌یابد. هم‌چنین تعداد مراکز پلاسمافرزیز ایالات متحده در این سال‌ها از ۳۰۰ عدد به بیش از ۶۰۰ عدد رسیده است. (۱۳۳) در سال ۲۰۱۹ با شیوع پاندمی کرونا، ایالات متحده شاهد کاهش میزان نهایی پلاسمای جمع‌آوری تا ۱۴ درصد شده بود که با پیش‌گرفتن استراتژی سخت‌گیرانه در راستای افزایش تعداد مراکز جمع‌آوری پلاسمای استحصالی از روش پلازما فرزیز در سال‌های ۲۰۲۰ و ۲۰۲۱ نرخ رشد ۱۰-۱۲ نسبت به سال ۲۰۱۹ در میزان پلاسمای جمع‌آوری شده ایجاد کرد. (۱۳۴) طبق آخرین گزارش منتشر شده توسط مرکز تحقیقات بازاریابی^{۷۹} تجمع

77 Contract plasma fractionation

78 PPTA: Plasma Protein Therapeutics Association

79 MRB: Marketing Research Bureau

مراکز جمع‌آوری پلازما در ایالات متحده آمریکا، سهم ۶۵ درصدی را برای این کشور به ارمغان آورده است. این در حالی است که سهم کشورهای اروپایی ۱۵ درصد آسیا ۱۸ درصد، آفریقا ۱ درصد و آمریکای لاتین ۱ درصد می‌باشد. (۱۳۵)

پیشبرنده‌های صنعت پلازما در بازار جهانی

فرآورده‌های دارویی مشتق از پلازما در سال‌های ۲۰۱۸-۲۰۱۶ حدود ۲۱ میلیارد دلار در بازار جهانی نقش داشته است و پیش‌بینی می‌شود حجم این بازار در پایان سال ۲۰۲۵ با رشد ۶/۸٪ به حدود ۳۶ میلیارد دلار برسد. بررسی روند بازار جهانی فرآورده‌های دارویی مشتق از پلازما می‌تواند استراتژی‌های الگوی تجارت، برنامه‌ریزی میزان تولید و برآورد تقاضای آینده فرآورده‌های دارویی مشتق از پلازما را تعیین نماید. (۱۳۶)

در سیر تکاملی فرآورده‌های دارویی مشتق از پلازما از ابتدا تاکنون، فراز و نشیب‌های بسیاری وجود داشته است. فرآیندهای پالایش پلازما به روش کهن اولین بار برای تولید آلبومین آغاز گردید، اما دیگر پروتئین‌ها و از همه مهم‌تر ایمونوگلوبولین‌ها و فیلم فیبرینی همراه با ترومبین نیز در سال ۱۹۴۵ میلادی به عنوان محصول جانبی^{۸۰} ارزش خود را نشان دادند. (۱۳۷)

پس از جنگ جهانی دوم، صنعت پالایش پلازما برای یک دوره زمانی رو به آهستگی گذاشت، در حالی که آلبومین محصول غالب این صنعت بود. (۱۳۸) اواخر دهه ۱۹۵۰ میلادی برای تامین بیشتر آلبومین از شوک گرمایی استفاده شد. اما استفاده از روش شوک گرمایی برای تهیه آلبومین محدودیت‌هایی داشت که از همه مهم‌تر عدم امکان تهیه کنسانتره فاکتور VIII و نیز ایمونوگلوبولین از طریق این روش بود. (۱۳۹)

به طور کلی از دهه ۱۹۵۰ تا دهه ۱۹۶۰ میلادی، مقدار پلاسمایی که باید در شرکت‌های پالایشگر، پالایش می‌گردید تا مقادیر کافی آلبومین مورد نیاز تقاضای بازار را تأمین نماید، سطح پردازش صنعت پلازما را تعیین می‌کرد. در همین هنگام ایمونوگلوبولین یک محصول جانبی به حساب می‌آمد و در مقادیر بیش از نیاز در دسترس بود. بعضی از انواع ایمونوگلوبولین به علت کیفیت پایین از نظر تجاری، قابلیت استفاده را نداشتند و بعضی از آن‌ها برای سال‌های متمادی در قفسه‌های داروخانه می‌ماندند و در نهایت از بین برده می‌شدند. تا آن زمان هنوز پتانسیل درمانی ایمونوگلوبولین برای درمان نقص ایمنی به شکل کنونی شناسایی نشده بود. بنابراین خلوص، کیفیت و ایمنی این محصولات بسیار کمتر از ایمونوگلوبولین‌هایی بود که امروزه در دسترس قرار دارند و تجویز آن‌ها از طریق مسیر داخل عضلانی دست‌وپاگیر و مانع اثربخشی بالینی بود. (۱۴۰) در همان زمان، شرکت‌های پالایشگر در ایالات متحده آمریکا علاوه بر آلبومین، ایمونوگلوبولین داخل عضلانی و فاکتورهای انعقادی برای بازارهای داخلی و نیز برای صادرات تولید می‌کردند. زیرا شرکت‌های پالایشگر در ایالات متحده آمریکا به طور معنی‌داری بسیار بزرگ‌تر از شرکت‌های تولیدی در دیگر کشورها بودند. (۱۴۱)

در اواخر دهه ۱۹۶۰ میلادی، فاکتور VIII و چند سالی پس از آن فاکتور IX از نظر تجاری آرام آرام در دسترس قرار گرفتند. این محصولات نه تنها زندگی بیماران مبتلا به هموفیلی A و B را تغییر دادند، بلکه نگاه صنعت پلازما را نیز به سمت خود معطوف نمودند. این مسأله بدین صورت شکل گرفت که صنعت پلازما باید نیاز رو به افزایش کنسانتره انعقادی فاکتور آنتی‌هموفیلیک مورد تقاضای بیماران هموفیلیک را برآورده می‌نمود. این محصول به سرعت به پیشبرنده بازار تبدیل شد و جایگزین آلبومین انسانی گردید و حجم پلاسمایی که مورد پردازش قرار می‌گرفت با نیاز برای فاکتور VIII مشتق از پلازما برآورد می‌گردید.

در سال ۱۹۸۲ ایمونوگلوبولین داخل وریدی پلی‌والان (IVIG) در ایالات متحده آمریکا و تقریباً در همان زمان در آلمان و ژاپن توسط دو شرکت Cutter و Sandoz عرضه گردید. در این زمان فروش IVIG به سرعت بالا

رفت چرا که اثرات درمانی مفید آن توسط انجمن‌های پزشکی شناسایی و توسط شرکت‌های سازنده مطرح گردید. با این وجود تا زمانی که در اواسط دهه ۱۹۸۰ روش‌های غیرفعال‌سازی ویروسی با هدف اجتناب از انتقال بیماری‌ها به ویژه HIV معرفی گردید، هنوز فاکتور VIII به عنوان پیشبرنده بازار باقی مانده بود. استقرار روش‌های غیرفعال‌سازی ویروسی به شکل معنی‌داری بازده محصول فاکتور VIII را کاهش داد، در نتیجه حجم بالاتری و تقریباً ۵۰ درصد بیشتر پلاسما مورد نیاز بود تا بتواند مقدار فاکتور VIII را به اندازه قبل در دسترس قرار دهد. در همین هنگام و در انتهای سال ۱۹۹۲ اولین فاکتور VIII نو ترکیب توسط شرکت Baxter به بازار معرفی و باعث ایجاد تغییری دیگر در بازار صنعت پلاسما گردید.

در سال ۱۹۹۲ پلاسمای در دسترس منبع و بازیافتی برای پالایش در آمریکا حدود هشت میلیون لیتر بود. از سال ۱۹۹۳ انجمن بیماران هموفیلی در آمریکا به سمت مصرف فاکتور VIII نو ترکیب تمایل پیدا نمود و فاکتور VIII نو ترکیب محصول انتخابی برای نوزادان پسر مبتلا به هموفیلی گردید. در حالی که تقاضا برای فاکتور VIII مشتق از پلاسما رو به سقوط بود، شرکت‌های پالایشگر فرصت یافتند که مسیر خود را به سمت فروش بازارهای دیگر تغییر دهند. فاکتور VIII نو ترکیب در سال ۱۹۹۴ به غرب اروپا و ژاپن رسید، بنابراین کاهش دیگری در این محصول در این نواحی نیز حاصل گردید. در اواسط دهه ۱۹۹۰ تقاضا برای IVIG به نقطه‌ای رسید که پیشبرنده بازار صنعت پلاسما گردید و نقش فاکتور VIII را در دست گرفت و بنابراین مقادیر پلاسما که جمع‌آوری و در نهایت پردازش می‌گردید با میزان تقاضا برای ایمونوگلوبولین پلی‌والان تعیین میشد. این وضعیت تا به امروز ادامه دارد و به نظر میرسد که به احتمال زیاد تا دو دهه دیگر نیز ادامه یابد. (۱۴۲)

اگر چه استفاده از ایمونوگلوبولین بین ۲۰۰۴ و ۲۰۱۸ سه برابر شده است، اما تجزیه و تحلیل داده‌ها در بعضی از مطالعه‌ها نشان داده است که افزایش مصرف ایمونوگلوبولین و پیش‌بینی‌های مربوط به افزایش مصرف حدود ۵ تا ۷ درصد سالیانه این حصول بیشتر مبتنی بر محوریت بازار بوده است

و کمتر بر مبنای مدار مبتنی بر شواهد به عنوان مبنای واقعی این افزایش نیاز در نظر گرفته شده است. (۱۴۳)

بعضی از کشورها برای این افزایش روزافزون نیاز به محصولات دارویی مشتق از پلاسما، استراتژی‌های خاص در نظر گرفته‌اند، برای مثال در کشور ایتالیا علاوه بر برنامه‌های افزایش جمع‌آوری پلاسما برای ارسال به شرکت‌های پالایشگر، برنامه‌های متناسب‌سازی درخواست‌ها و نیازها نیز مدّ نظر قرار گرفته شده است. (۱۴۴) اما به هر حال مقادیر پلاسمایی که باید در طی سال‌های آتی جمع‌آوری گردد، در حال حاضر با تقاضای نیاز جهانی به IVIG پیش‌بینی می‌گردد. (۱۴۵)

ورود بخش خصوصی به صنعت پلاسما

پلاسمای انسانی که برای تهیه محصولات درمانی حیاتی مورد استفاده قرار می‌گیرد در مقایسه با سایر محصولات درمانی فارماسیوتیکال و بیوفارماسیوتیکال مرسوم، یک تفاوت اساسی دارد که به ارزشمند بودن ماده خام اولیه آن برمیگردد و دلیلی جز منشا منحصر به فرد انسانی آن ندارد. (۱۴۶)

علاوه بر این کمابای این ماده خام اولیه نیز همیشه ملاحظات قانونی و اخلاقی خاصی را به همراه داشته است و به همین علت صنعت پالایش پلاسما از دیگر صنایع دارویی متمایز می‌باشد (۱۴۷) برای مثال هزینه ماده خام اولیه یعنی پلاسما در صنعت پلاسما حدود ۴۵ درصد است که در مورد دیگر صنایع دارویی این مبلغ حدود ۵ درصد می‌باشد. در طی سال‌های اخیر هزینه پلاسمای با کیفیت ۴۰ درصد افزایش یافته است و علت اصلی آن انجام آزمایش‌های اسید نوکلئیک باعث افزایش هزینه پلاسما به میزان زیادی گردیده است (۱۴۸)

ساخت محصولات بیولوژیک از پلاسمای انسانی به دلیل ماده خام اولیه آن از ابتدا یک موضوع مناقشه برانگیز بوده است، در اغلب موارد پلاسمای انسانی جهت پالایش از منابع تجاری و با استفاده از اهداکنندگان در ازای دریافت پول حاصل می‌شود. در این صورت دریافت پلاسما در مراکزی صورت می‌گیرد

که یا متعلق به شرکت پالایشگر می‌باشند و یا شرکت‌هایی که اختصاصاً جمع‌آوری پلازما را به عهده دارند.

در انتهای جنگ جهانی دوم زیرساخت‌های دولتی قادر به حل تعارضات صنعت پالایش پلازما نبود، بنابراین شرکت‌های بخش خصوصی که در این دوره زمانی در صنعت پلازما درگیر شده بودند به فعالیت بیشتر خود ادامه دادند و اکنون تعدادی از آن‌ها در اروپا، ایالات متحده آمریکا و استرالیا در حال فعالیت می‌باشند. (۱۴۹)

تجارت پالایش پلازما در حال حاضر نیز در دست شرکت‌های بزرگ پالایشگر در دنیا است اما در بعضی از کشورهای در حال توسعه تلاش‌هایی برای پالایش پلازما چه در سطح تحقیقاتی و چه در سطح ملی و در جهت تأمین خودک‌هایی مشتقات پلاسمایی صورت گرفته است. (۱۵۰)

در سال‌های ابتدایی صنعت پلازما پس از شناسایی محصول آلبومین که اثرات درمانی مفیدی دارد و می‌تواند به عنوان یک داروی ایمن در مقادیر بالا تولید گردد، شرکت‌های دارویی خصوصی را به این مسیر سوق داد که می‌توانند وارد این عرصه از فعالیت شوند. این شرکت‌ها ابتدا در آمریکا تأسیس گردید. در اروپا اولین شرکت‌های پالایش پلازما در آلمان، ایتالیا، فرانسه، اسپانیا و صلیب سرخ سوئیس تأسیس گردید. این در حالی بود که ژاپن سازنده اولین کارخانه پالایش پلازما در آسیا بود. اولین محصول این شرکت‌ها آلبومین بود اما بعضی از آن‌ها ایمونوگلوبولین طبیعی و یا اختصاصی نظیر آنتی‌تتانوس، آنتی‌هپاتیت B و یا ضد‌های نیز تولید می‌کردند. ایمونوگلوبولین ضد سیستم Rh (Anti D) و نیز فاکتور VIII و فاکتور IX در اواخر دهه ۱۹۶۰ کشف شد.

در ابتدا صلیب سرخ و دیگر سرویس‌های انتقال خون غیرانتفاعی، تأمین کننده پلازما در ایالات متحده آمریکا بودند. اما آن‌ها به‌زودی در تأمین مقادیر کافی پلازما برای پالایش که رشد فزاینده‌ای داشت، ناتوان شدند. در نتیجه بخش خصوصی به شکل انحصاری جمع‌آوری پلاسمای پالایش شده را بر عهده گرفت.

در اواسط دهه ۱۹۸۰ جمع‌آوری در کیسه انجام می‌گرفت و توسط سانتریفیوژ پلازما از خون کامل جدا می‌گردید، اما در دهه ۱۹۹۰ چرخه اهدای پلازما توسط دستگاه‌های اتوماتیک پلاسمافریز ارتقا یافت.

در دهه ۱۹۸۰ بحران بیماری ایدز باعث ایجاد تغییرات اساسی در بخش جمع‌آوری پلازما و صنعت پلازما در ایالات متحده آمریکا گردید، به طوری که حجم پلاسمای جمع‌آوری در این بخش به شدت کاهش یافت. در سال ۱۹۷۸ مقدار ۵/۴ میلیون لیتر پلاسمای منبع در ایالات متحده جمع‌آوری شد که این مقدار در سال ۱۹۹۶ به حدود ۱۲ میلیون لیتر افزایش یافت. اما در سال ۲۰۰۰ این مقدار به ۹/۶ میلیون لیتر کاهش یافت و بعضی از شرکت‌های پالایشگر به علت فشار ناشی از مراجع یصلا نظارتگر و نیز به علت عدم استقرار سیستم الزامات GMP تعطیل شدند.

حجم پلاسمای منبع مستقیماً به میزان نیاز به محصولات نهایی وابسته است و مقدار آن رشد فزاینده‌ای داشته است. علی‌رغم آن مقدار پلاسمای بازیافت برای پالایش به طور قابل ملاحظه‌ای رشد ثابتی داشته است، زیرا حجم آن وابسته به نیاز برای محصولات خونی ناپایدار به ویژه گلبول قرمز و پلاکت می‌باشد. (۱۵۱)

در سال ۲۰۰۵ حجم پلاسمای جمع‌آوری شده در چین چهار و نیم میلیون لیتر بود. اما وقتی صنعت پلازما تحت نظارت‌های شدید مراجع یصلا^{۸۱} قانون‌گذار برای استقرار الزامات GMP قرار گرفت، همانند حادثه‌ای که در اواخر دهه ۱۹۹۰ در آمریکا اتفاق افتاد، در چین نیز حج پلازما به دو میلیون و هفتصد هزار لیتر در سال ۲۰۰۷ تقلیل یافت و سپس در سال ۲۰۰۹ به سه میلیون و چهارصد هزار لیتر افزایش یافت.

پلاسمای بازیافتی در چین برای صنعت پلازما مورد استفاده قرار نمی‌گیرد و در منطقه آسیای شرقی هیچ کشوری این مقدار پلازما برای پالایش جمع‌آوری نمی‌کند.

در اروپا، مقادیر پلاسمای منبع برای صنعت پالایش پلازما در طی چند ساله اخیر افزایش یافت و از کمتر از یک میلیون لیتر به حدود دو و نیم میلیون لیتر تا سال ۲۰۰۹ رسید. اما این نکته حائز اهمیت است

که در حال حاضر اغلب شرکت‌های تجاری پالایش پلاسما به طور عمده پلاسمای منبع را از ایالات متحده آمریکا وارد می‌نمایند. (۱۵۲)

آلودگی ویروسی و هزینه و فایده ویروس‌زدایی در صنعت پلاسما

خون و پلاسمای انسان، پتانسیل انتقال بیماری‌های عفونی از راه تزریق خون را دارند و مشتقات پلاسمایی حتی با خلوص بالا نیز ممکن است به ویروس‌های منتقل شونده آلوده باشند (۱۵۳) از طرفی مخلوط کردن پلاسما جهت تهیه مشتقات پلاسمایی شانس انتقال بیماری‌های عفونی را افزایش می‌دهد. (۱۵۴)

در اواخر دهه ۱۹۷۰ و اوایل دهه ۱۹۸۰ میلادی استفاده از کنسانتره‌های فاکتورهای انعقادی یک فاجعه جهانی ایجاد نمود و تعداد بسیاری از مصرف کنندگان به ویروس HIV و HCV مبتلا شدند. فاجعه HIV و دیگر آلودگی‌های ویروسی دهه ۱۹۸۰ تاکیدی بر استفاده از تکنولوژی‌های نو ترکیب در دهه مذکور بود. (۱۵۵) اگر چه در همین زمان مواردی از ابتلا در محصولات ایمونوگلوبولین طبیعی و یا اختصاصی گزارش نگردید که می‌توانست در ارتباط با جداسازی این پروتئین‌ها در غلظت‌های بالاتر اتانل مصرفی در فرآیند پالا باشد. یش پلاسما به روش کهن باشد. (۱۵۶)

در حالی که حذف باکتری با استفاده از فیلتراسیون نسبتاً آسان است، اما حذف و یا غیر فعال کردن ویروس‌ها و پرویون‌ها بسیار مشکل‌تر به نظر می‌رسید. (۱۵۷) بنابراین جلوگیری از آلودگی‌های منتقل شونده از طریق مشتقات پلاسمایی، دغدغه اصلی هم تولیدکنندگان و هم مراجع نظارتی بهداشتی^{۸۲} گردید. ما علیرغم مشکلات ایجاد شده، صنعت پلاسما تا قبل از سال ۱۹۸۴ هیچ اقدام جدی جهت رفع این معضل انجام نداد، اگرچه پس از آن روش‌های متعدد حذف عوامل عفونی و یا غیرفعال‌سازی ویروس‌ها به پروسه‌های اصلی تولید الحاق گشت. (۱۵۸)

نتیجه این اقدام افزایش چندین برابری قیمت محصولات در بازار شد، زیرا افزودن مراحل متعدد به فرآیند ساخت در بعضی موارد باعث کاهش بازدهی و افزایش هزینه‌های ساخت می‌گردید. (۱۵۹)

برای جلوگیری از آلودگی‌های مشتقات پلاسمایی در اروپا و آمریکا قوانین نظارتی و کنترلی شدیدی در زمینه انتخاب و غربالگری اهداکننده در دهه ۱۹۷۰ و معتبرسازی روش‌های حذف و یا غیرفعال‌سازی ویروسی در دهه ۱۹۹۰ بنا گذاشته شد. این الزامات ضروری بودند زیرا مشتقات پلاسمایی از مخلوط کردن پلاسمای هزاران اهداکننده تولید می‌گردید و آلودگی یک اهداکننده، پتانسیل آلوده کردن تعداد بسیاری از گیرندگان دارو را در پی داشت.

اگر چه روش‌های حذف و یا غیرفعال‌سازی ویروسی در چرخه تولید بیشترین ایمنی ویروسی را ایجاد می‌کند، اما به دلیل خطر بالای انتقال بعضی از ویروس‌ها نظیر HBV و یا HAV و برای اطمینان از ایمنی کامل کافی به نظر نمی‌رسند. دلیل واضح این مسأله این است که انتقال ویروس تابعی از نرخ وقوع^{۸۳} عفونت در جمعیت اهداکنندگان است، بنابراین پایش تغییرات در نرخ بروز در اهداکنندگان بسیار منطقی به نظر می‌رسد. تغییرات در نرخ بروز می‌تواند در اثر مسافرت، مهاجرت، تغییرات رفتاری و دیگر فاکتورها اتفاق بیافتد، پایش نرخ آلودگی در جمعیت اهداکنندگان با هدف کنترل کیفیت ماده خام اولیه ضروری می‌باشد. (۱۶۰)

در حال حاضر با استراتژی‌های غیرفعال‌سازی ویروسی که بر روی چرخه‌های تهیه مشتقات پلاسمایی الحاق شده است، احتمال انتقال آلودگی‌های ویروسی را فقط می‌توان از طریق محاسبات آماری تخمین زد. این احتمالات به عواملی نظیر خطر هر اهداکننده، مقدار ویروسی که ممکن است در هر واحد پلازما وجود داشته باشد اما آن واحد پلازما از نظر آزمایش‌ها منفی گزارش گردد، تعداد واحدهای مخلوط شده برای تهیه مشتقات پلاسمایی هم‌چنین به قدرت چرخه‌های غیرفعال‌سازی ویروسی بستگی دارد. (۱۶۱)

اما علیرغم مشکلات مطرح شده، انتقال پاتوژن از طریق انتقال خون را نمیتوان به طور کامل منتفی دانست،

زیرا بعضی ویروس‌ها و یا عوامل عفونی به روش‌های غیرفعال‌سازی رایج نیز مقاوم می‌باشند. از طرفی سیستم خود حذفی اهداکننده و نیز غربالگری اهداکننده و پلازما ایمنی مؤثری را نسبت به پاتوژن‌های شناخته شده فراهم آورده است، اما زمانی که یک ویروس جدید و یا نوظهور مطرح می‌شود، ردیابی امکان‌پذیر نمی‌باشد، در نتیجه روش‌های مستحکم‌تر غیرفعال‌سازی ویروسی اهمیت خود را در چرخه‌های ساخت ظاهر می‌سازد. (۱۶۲)

ظهور بیماری کرونا ویروس و ویروس‌های دیگر نظیر ویروس نیل غربی، سندرم تنفسی حاد (SARS) و آبله میمونی (Monkey pox) نشان داده است که تهدیدات بالقوه هنوز وجود دارد و این مسأله باعث ارزیابی مجدد استراتژی‌های فعلی ایمنی در راستای محصولات پلاسمایی گردیده است. (۱۶۳) در حال حاضر افزایش خطرات ناشی از بیماری‌های مشترک بین انسان و دام بر اهمیت شناخت پاتوژن‌های ناشناخته تاکید می‌کند. (۱۶۴)

باید در نظر داشت که بین خطر انتقال بیماری از طریق مشتقات پلاسمایی و هزینه تولید شده محصولات باید تعادلی برقرار باشد، پس بنابراین میتوان این سؤال را مطرح نمود که در جوامع بشری چه میزان خطر انتقال قابل قبول است. برای مثال خطر انتقال عوامل عفونی از طریق انتقال خون در سال ۲۰۰۹ برای HCV و HIV یک مورد در یک میلیون و برای HBV یک مورد به ازای پانصد هزار واحد خون تخمین زده شده است. (۱۶۵)

البته خطر انتقال از طریق فرکشن‌های تخلیص شده کمتر از خون کامل می‌باشد که با استفاده از روش‌های مختلف حذف و یا غیرفعال‌سازی توسط محققین بسیاری اثبات شده است. (۱۶۶)

در سال ۲۰۰۵ مونتووانی و همکارانش مطالعه جالبی را در زمینه هزینه و فایده ارائه دادند. در این مطالعه فاکتور VIII نو ترکیب با هم‌ارزی درمانی با فاکتور VIII مشتق از پلازما بررسی شد و بیماران هموفیلیک در زمینه طول زمانی دوره تزریق، ایجاد مهارکننده‌ها و همچنین ایمنی ویروسی مورد مقایسه قرار گرفتند.

این محققین نتیجه گرفتند در زمان محدودیت منابع و در موردی که هم‌ارزی درمانی وجود داشته باشد، تفاوت قیمت تعیین‌کننده نوع انتخاب است. (۱۶۷)

این در حالی است که فارغ از کلیه مسائل، تخصیص منابع یکی از مشکلات فزاینده در مراقبت‌های بهداشتی در دنیا است. (۱۶۸) خواندن کتاب جیمز والش که در سال ۱۹۸۰ منتشر شده است برای درک بهتر خطر انتقال ویروس از طریق مشتقات پلاسمایی توصیه می‌شود. در این کتاب در مورد خطراتی که هر روز زندگی را تحت تاثیر قرار می‌دهد بحث شده است. نویسنده احتمال آسیب ناشی از برق گرفتگی را یک در ۳۰۰۰۰، مرگ در اثر مصرف بیش از حد مشروبات الکلی را یک در ۱۰۰ و مرگ در اثر تصادف با وسایل نقلیه موتوری را یک در ۶۰ بیان نموده است. جال این‌که از قول نویسنده کتاب بیوتکنولوژی پروتئین‌های پلازما بیان شده است من به شما تضمین می‌دهم که این میزان قابل مقایسه با خطرات ناشی از انتقال عوامل عفونی خون نمی‌باشد و این دیدگاه‌ها می‌تواند در تجزیه و تحلیل‌ها و رفع نگرانی بابت ایمنی خون مفید باشد، به جای این‌که در غباری از عدم قطعیت‌ها قضاوت کنیم. (۱۶۹)

فصل هفتم پالایش قراردادها

تهیه مشتقات ایمن و کافی پلاسمایی برای پوشش دادن نیازهای مردم تمام کشورها، نیازمند توجه ویژه و پشتیبانی اقتصادی و فنی می باشد، که به خوبی برنامه ریزی شده است. انتخابها شامل واردات فرآورده های آماده پلاسمایی و یا محصولات تهیه شده از پلاسمای جمع آوری شده در همان منطقه است. یکی از راه کارها، توجه به پالایش محلی پلازما است که به وسیله ساختن و راه اندازی تاسیسات پالایش پلازما یا امکاناتی که به طور منطقه ای مورد حمایت قرار گرفته است، انجام می گیرد. چنین تاسیساتی می تواند یا فرآورده های نهایی و یا فرآورده های حد واسط را که بعدا در مجتمع دیگری، فرایند نهایی بر روی آنها انجام می گیرد تولید نماید.

راه کار دیگر برای اطمینان از دستیابی به فرآورده های پلاسمایی، برنامه پالایش قراردادی پلازما است که پلاسماهای محلی به یک یا چند پالایشگاه پلازما فرستاده شده و پلازما مطابق با توافق از پیش تعیین شده، پالایش می گردد و تمام و یا بخشی از فرآورده های نهایی به کشور تامین کننده پلازما باز گردانده می شود.

هزینه ایجاد برنامه پالایش قراردادی پلازما در مقایسه با تاسیس و راه اندازی یک پالایشگاه پلازما خیلی کمتر است. در موقع عدم وجود پالایشگاه محلی، دسترسی به فرآورده های پلاسمایی که از پلاسمای محلی تهیه می شود، با بستن قرارداد پالایش پلازما در زمان کوتاه تری قابل حصول است.

برنامه پالایش قراردادی پلازما تحت شرایط خاصی می تواند به عنوان مرحله مقدماتی برای تاسیس پالایشگاه پلازما عمل کند. این فاصله زمانی می تواند برای تمرکز بیشتر بر منطق احداث یک پالایشگاه محلی، افزایش ظرفیت بالقوه در زمینه جمع آوری پلازما، طراحی مناسب، کیفیت سازی، معتبر سازی امکانات و آموزش کارکنان محلی استفاده شود.

نکات مهم

هر تصمیمی که در مورد برنامه پالایش قراردادی پلازما گرفته می شود، باید همراه با روند تصمیم گیری دقیق و صحیح باشد. علاوه بر رعایت الزاماتی که سلامت و مقرون به صرفه بودن تولید فرآورده های خونی را تضمین می کند، موارد خاص دیگری مرتبط با ساخت فرآورده های پلاسمایی وجود دارند که باید در نظر گرفته شوند. این موارد عبارتند از:

- ارزیابی دقیق از نیازها و خواسته‌های بالینی و تعریف واضح از نوع و کیفیت فرآورده‌های پلاسمایی مورد نیاز برای درمان مناسب بیماران.
- جمعیت کافی اهدا کنندگان خون و یا پلاسما، منطقه ای یا ملی، برای تضمین تامین مناسب و کافی ماده اولیه سالم برای پالایش پلاسما.
- وجود سازمان کارا برای جمع آوری خون در سطح ملی.
- انتخاب اهدا کننده خون و یا پلاسما، روندهای جمع آوری، روش‌های انجام آزمایش‌ها، مدیریت اهدا، ذخیره سازی و حمل و نقل پلاسما بایستی از پروسه تعریف شده تضمین کیفیت (راهنماهای بین المللی) پیروی کند.
- پلاسمای مورد نیاز برای پالایش، باید معیارهای مورد نیاز ایمنی و کیفیت را به عنوان ماده اولیه جهت تولید فرآورده‌های پلاسمایی را داشته باشد. الزامات موسسه پالایش کننده پلاسما و بازرسی‌های منظم دارویی رعایت شود. همچنین ردیابی پلاسما بین اهدا پلاسما و فرآورده‌های نهایی پلاسمایی یک عامل کلیدی است که باید در نظر گرفته شود.
- یک ساختار مشورتی حرفه ای- ملی با صلاحیت، به همراه کارشناسان محلی کافی برای ارائه توصیه‌ها در مورد برنامه باید در روند تصمیم گیری دخالت داشته باشند.
- یک نهاد قانونی بهداشت در سطح ملی که قادر به ارزیابی و تنظیم موضوعات پیچیده مرتبط با کیفیت و ایمنی فرآورده‌های دارویی مشتق از انسان باشد.
- موازنه اقتصادی کل برنامه باید بدقت ارزیابی گردد تا اطمینان حاصل شود که برنامه، پارامترهای مختلف هزینه‌ها در جهت مقرون به صرفه بودن پوشش می دهد.

ارزیابی امکان پذیری

برنامه پالایش قراردادی پلاسما باید بر پایه اصول تولید قراردادی فرآورده‌های دارویی بوده و برنامه ریزی‌ها باید الزامات تدوین شده توسط نهاد قانونی بهداشت در سطح ملی را رعایت نماید. مسئولیت و وظایف هر بخش دخیل در این قرارداد (شامل تامین کنندگان پلاسما و شرکت‌های پالایش کننده) باید به وضوح در اسناد فنی اختصاصی، مشخص شده باشد. پارامترهای مورد توجه عبارتند از:

۱- منبع تامین پلاسما

برنامه پالایش قراردادی پلاسما، در صورتی که تضمین در مورد تامین و مداوم پلاسمای وجود دارد، در نظر گرفته شود. در بیشتر موارد، جایی که دسترسی به پلاسما موقتی است، بستن چنین قراردادهایی توصیه نمی شود. ظرفیت استفاده از پلاسمای به دست آمده از اهدا خون کامل و نیاز احتمالی به جمع آوری پلاسما از طریق روند آفریزس باید ارزیابی شود.

۲- حجم پلاسما

بایستی تامین مداوم حداقل پلاسما برای پالایش، قبل از تصمیم گیری در مورد پالایش قراردادی پلاسما، مد نظر قرار گیرد. توافقات برای پالایش پلاسما اغلب حداقل در حجم ۳۰۰۰۰ لیتر پلاسما در سال را شامل می شود. البته مثال هایی از توافقات بلند مدت با حجم های کمتر در مجتمع های پالایش کننده معظم، هم وجود دارد. از نظر فنی حداقل مقدار مورد پذیرش، بستگی به سائز بچ کاری در دو سطح متفاوت دارد: الف- در مرحله مخلوط کردن (Pooling) پلاسما و روند پالایش بالک (به طور عادی از ۱۰۰۰ تا ۴۰۰۰ لیتر به ازای هر بچ) و ب- در مرحله پایانی تولید فرآورده های پلاسمایی، چون محصولات حد واسط از چندین مخلوط پلاسما با منشاء یکسان تهیه می شود.

سری های کاری (batches) پالایش پلاسما، معمولا حجمی معادل ۲۰۰۰ تا ۴۰۰۰ لیتر دارند و از مخلوط کردن پلاسمای هزاران اهدا کننده به دست می آید. تهیه پلاسما برای پالایش مطابق با اصول GMP، یکی از عناصر کلیدی در کیفیت و ایمنی فرآورده های مشتق از پلاسما است. خصوصیات کیفی پلاسما برای پالایش باید موسسات پالایش کننده پلاسما به طور دقیق تعریف شده و توسط موسسات نظارتی تایید شده باشد.

۳- دوره قرارداد

بایستی تضمینی به دست آید، که شرکت پالایش کننده بتواند متعهد شود که قرارداد را برای حداقل دوره زمانی موافقت شده و مطابق با درخواست های تامین کننده پلاسما انجام دهد. اگر حجم پلاسما کافی باشد، عاقلانه است برای چنین کشورهایی که با بیش

از یک شرکت پالایش کننده پلازما قرارداد ببندند تا انعطاف پذیری وجود داشته و اطمینان از تامین فرآورده‌های پلازمایی به صورت مداوم و به طور متنوع وجود داشته باشد.

پرونده اولیه فرآورده و خصوصیات

اصول کلی پالایش پلازما به خوبی تدوین شده اند و در روش‌های مشابه انجام می گیرند. البته تفاوت‌های زیادی در روند تولید فرآورده‌های پلازمایی وجود دارد. روش‌های غیر فعال سازی و پروسه و ساینز هر بچ ممکن است بر روی بازده محصول تاثیر داشته باشند. بنابراین در هنگام گفتگو برای بستن قرارداد با پالایشگاه، نکات ذکر شده باید مورد توجه قرار گیرند و قوانین مرتبط رعایت شوند. به علاوه کشورهای در حال توسعه ممکن است با محدودیت‌های اقتصادی یا ویژگی‌های جمعیتی بیماران خود مواجه شوند که مانع از استفاده آن‌ها از راهکارهای بالینی کشورهای پیشرفته می شود. برای مثال دوزهای مورد استفاده برای فاکتور هشت انعقادی تغلیظ شده (VIII) و ایمونوگلوبولین داخل وریدی (IVIG) حداقل در ابتدا، کمتر از دوز مصرف شده در کشورهایی می باشد که از نظر پزشکی پیشرفته تر هستند. همچنین گرایش‌های بالقوه در مصرف فرآورده و تاثیر احتمالی سایر درمان‌ها و فن آوری‌ها باید در تصمیم گیری درست مورد ارزیابی قرار گیرند.

الزامات قانونی

فعالیت پالایش قراردادی پلازما، بخش‌های مختلف را برای اطمینان از کیفیت و ایمنی ماده اولیه، پلازما برای پالایش، و فرآورده‌های نهایی شامل می شود.

الف- روندهای جمع آوری خون و یا پلازما

قبل از انتخاب پلازما به عنوان ماده اولیه برای فرآورده‌های دارویی، باید الزامات کیفی در تمامی مراکز جمع آوری آن رعایت شود. این الزامات بوسیله روندهای بازرسی و نظارت قانونی که مطابق با الزامات GMP است، نشان داده می شود.

تامین کننده پلاسما: بازرسی و نظارت قانونی

با توجه به این که جمع آوری پلاسما برای پالایش، بخش مهمی از فرآیند تولید فرآورده‌های مشتق از پلاسما را تشکیل می دهد ، اطلاعات زیر باید در دسترس باشند:

- ✓ خصوصیات اپیدمیولوژیکی جمعیت اهدا کننده
- ✓ معیارهای انتخاب اهدا کننده خون و یا پلاسما
- ✓ روندهای جمع آوری و انجام آزمایش‌ها
- ✓ روش‌های فرایند ، نگهداری و حمل و نقل

این اطلاعات بایستی معیارهای قابل قبول نهاد نظارت ملی را در کشورهای مبدا عرضه کننده پلاسما و پالایش کننده پوشش دهد. در مقابل باید شرکت پالایش کننده از معیارهای پلاسمای نهاد نظارت ملی در کشور خودش ، پیروی نماید. روندهای تأیید شده که در بالا به آن‌ها اشاره شد، بر پایه معیارهای کیفی هستند که مربوط به پلاسمای مورد استفاده برای پالایش است. در نتیجه، ممکن است موقعیتی بوجود آید که در آن برخی از مراکز جمع آوری پلاسما، از الزامات مربوط به جمع آوری اجزا حساس خون که مورد نیاز محلی است، رضایت داشته باشند، ولی تمایلی به جمع آوری پلاسما جهت پالایش نداشته نباشند. البته معیارهای مهم برای آزمایش اهدا کننده، رعایت می گردد، اما ممکن است معیارهای قابل قبول در مورد جنبه‌های مختلف پشتیبانی ، نظیر زمان‌های جداسازی ، منجمد کردن، ذخیره سازی و وضعیت حمل و نقل موجود نباشند.

ب- روندهای پالایش پلاسما

مقامات قانون گذار موسسه‌های بهداشت ملی هر کشور باید گواهینامه امکانات پالایش را صادر نمایند. توصیه می شود که مقامات قانون گذار کشورهای تامین کننده پلاسما، قبل از بستن قرارداد، کیفیت و ایمنی فرآیند مراکز پالایش پلاسما را ارزیابی کنند. یکی از اولین مراحل که بایستی قبل از تصمیم گیری در مورد پالایش پلاسما انجام گیرد ، تأیید این موضوع است که فرآورده‌های پلاسمای تولیدی بوسیله پالایش کننده قراردادی، از نظر ویروسی غیر فعال شده و مجوزهای محصول تکمیل گردیده است.

معیارهای ویژه برای کنترل خطرات عفونی شامل (۱) معیارهای انتخاب اهدا کننده خون و یا پلازما (۲) روش‌های مورد استفاده برای آزمایش خون و یا پلاسمای اهدایی (۳) بررسی اپیدمیولوژیک جمعیت اهدا کننده (۴) پیروی از اصول GMP توسط موسسات خون و (۵) وجود سیستم اطلاعات بعد از اهدای خون، می باشند .

در طی روند تولید هر محصول، برای غیر فعال سازی یا حذف ویروس‌های پوشش دار و یا بدون پوشش که ممکن است بالقوه در ماده اولیه (پلازما) وجود داشته باشند، مراحل پیش بینی شده و معتبر سنجی شده بکار گرفته می شود. مطالعات تجربی اخیر نشان می دهد که مراحل متعدد روند پالایش پلازما، با حذف پریون‌ها ارتباط دارد.

سایر جنبه‌های کیفی که ممکن است بر روی میزان کیفیت یا بازیابی فرآورده‌های پلاسمایی پالایش شده تاثیر بگذارند، شامل پارامترهای عملیاتی مورد استفاده برای جداسازی پلازما، میزان فریزینگ و دمای نگهداری پلازما هستند.

بسته به سیاست خاص هر کشور، ممکن است قبل از روند تولید در موسسه پالایش کننده پلازما، بازرسی مورد نیاز باشد. برای مثال این بازرسی ممکن است جهت تشخیص چگونگی جدا سازی سری کار(بیج) بین پلازما از منابع مختلف انجام می شود. چنین بازرسی‌هایی باید با همکاری مقام‌های قانون گذار مسئول ، جهت اعطای گواهینامه به موسسه پالایش کننده باشد.

الزامات استاندارد کیفی

در بازارهای جهانی فرآورده‌های پلاسمایی، الزامات استاندارد کیفی در مورد پلازما مورد استفاده برای پالایش خیلی مهم تر از سطوح ملی یا منطقه ای هستند.^(۱۷۰) این الزامات کیفی حتی در برنامه پالایش قراردادی پلازما (که پلاسمای جمع آوری شده در یک منطقه یا کشور، در کشور دیگری پالایش می شود)، باید در نظر گرفته و اجرا گردد.^(۱۷۱)

روند صنعتی پالایش پلازما باید تحت شرایط بهداشتی کامل انجام گیرد. در موسساتی که دارای مجوز هستند، مطابق با اصول GMP مراحل تولید مورد استفاده برای جداسازی اجزای مختلف در یک روند مداوم و یکپارچه انجام می گیرد. اجزای مهم جدا شده، توسط روش‌های رسوب در سرما-۴ تا ۱ درجه سانتی گراد توسط اتانول سرد یا با استفاده از روش‌های کروماتوگرافی به محصولات درمانی ویژه ای تبدیل شده و خالص می گردند.^(۱۷۲)

تولید پلازما برای پالایش مطابق با اصول صحیح تولید GMP باید به عنوان یک بخش جدایی ناپذیر از روند تولید فرآورده‌های پلازما محسوب شود. اطمینان از ایمنی و کیفیت تک تک پلازماهای اهدا کنندگان، حائز اهمیت است، زیرا هر عدد پلازمای اهدایی یا انبوهی از پلازماها برای پالایش مخلوط شده و از آن‌ها داروهایی تهیه می‌گردد که به صدها بیمار تزریق می‌شود.

ویژگی‌های بکار گرفته شده بوسیله موسسات خون برای جمع‌آوری، آزمایش و نگهداری پلازما برای پالایش باید به طور دقیق توسط مراکز پالایش کننده پلازما تعریف و مشخص شده و توسط موسسات قانونی ناظر، تایید شده باشد. این الزامات مرتبط با پالایش پلازما ممکن است با الزامات مربوط به پلازمای تزریقی به بیماران متفاوت باشد.

در اروپا، اطلاعات مربوط به تمام روند جمع‌آوری پلازما برای پالایش در موسسه جمع‌آوری کننده پلازما در پرونده‌هایی که master File Plasma نامیده می‌شود، ثبت می‌گردد. (۱۷۳-۱۷۴) این پرونده یک بخش جدایی ناپذیر سند مجوز بازار برای این فرآورده‌های دارویی مشتق از پلازما است.

دارنده فرآورده‌های تهیه شده از پالایش قراردادی پلازما، باید با الزامات بازار فروش در منطقه خود منطبق باشند و روندهای دریافت مجوز محلی را انجام دهند. روند اخذ مجوز، شامل این موارد است:

- ✓ پرونده کامل اطلاعات پلازما (Plasma master file)
- ✓ پرونده کامل اطلاعات شرکت (Site/establishment master file)
- ✓ پرونده ثبت هر فرآورده به صورت جداگانه (Individual products registration file)

همانطور که در بالا اشاره شد این روند اخذ مجوزها ممکن است نیازمند بازرسی‌های اختصاصی امکانات مورد استفاده جهت جمع‌آوری و پالایش پلازما باشد. همچنین نهاد قانونی بهداشت در سطح ملی فرآورده‌های پلازمایی را تنظیم می‌کند. هر موسسه‌ای که با فرآورده‌های پلازمای خونی سروکار دارد و در توزیع آن دخیل است، بایستی الزامات منطقه‌ای برای ذخیره‌سازی، توزیع و ردیابی فرآورده‌های دارویی را رعایت نماید.

ملاحظات اقتصادی

در مورد جنبه‌های اقتصادی مرتبط به توافق پالایش قراردادی، نکات زیر می‌تواند در تخمین موارد اقتصادی برنامه و عوامل دخیل در

قیمت فرآورده‌های پلاسمایی مفید باشند:

- ✓ هزینه جمع آوری پلازما، شامل جذب اهدا کننده
- ✓ روندهای انجام آزمایش بر روی اهداهای منفرد
- ✓ ذخیره سازی پلازما
- ✓ حمل پلازما (بستگی به شرایط، از راه دریایی یا هوایی) به مجتمع پالایش کننده
- ✓ هزینه آزمایش‌های سرولوژی و NAT بر حسب نیاز
- ✓ هزینه پالایش بر حسب واحد فرآورده ساخته شده (برای مثال هر گرم آلبومین و IgG، و واحد بین المللی FVIII و FIX) یا هر لیتر پلاسمای پالایش شده. یک حداقل بازده تضمین شده بایستی در هزینه گنجانده شود.
- ✓ حمل فرآورده‌ها به کشور تامین کننده پلازما
- ✓ هزینه‌های ثبت فرآورده‌های پلاسمایی
- ✓ هزینه‌های توزیع
- ✓ مخارج درمانی و بازار/فروش
- ✓ امور اجرایی و هزینه‌های کلی

معمولا قیمت پلازما و هزینه‌های پالایش، نشان دهنده هزینه‌های اصلی فرآورده هستند. هزینه پلازما به دو عامل بستگی دارند:

یکی اینکه آیا پلازما از خون‌های اهدایی که جهت تهیه گلبول‌های قرمز دریافت شده اند به‌دست آمده است که این می‌تواند باعث

اشتراک هزینه‌ها شود و دوم اینکه آیا برنامه جمع آوری ویژه ای برای پلاسمای مورد نیاز جهت پالایش پلازما وجود دارد.

هزینه‌های فرآیند پالایش پلازما که به وسیله شرکت‌های پالایش کننده، دریافت می شود بر اساس معیارهای زیر هستند:

✓ حجم کلی پلاسمای پالایش شده، اندازه هر پیچ در مرحله مخلوط سازی^{۸۴} و اتمام تولید فرآورده‌های نهایی

✓ تعداد فرآورده‌های ساخته شده و بازیابی شده.

✓ فن آوری خالص سازی و روش‌های ویروس زدایی که بر روی بازیابی یا بازده مشتقات پلاسمایی تاثیر دارند.

ممکن است لازم باشد مبالغی به سومین گروه که حق امتیاز فن آوری محصول را دارند، پرداخت شود. هزینه‌های توزیع و بازار فروش، به عوامل محلی بستگی دارد، مانند این موضوع که آیا شبکه انتقال خون در امر توزیع دخالت دارد یا اینکه یک توزیع کننده مشخصی بکار گرفته شده است.

ممکن است موقعیتی ایجاد شود که در طی توافق نامه پالایش قراردادی، موسسه پالایش کننده مجاز گردد تا بخش یا قسمتی از محصولات تهیه شده از روند پالایش را برداشت کند. این امر در صورتی امکان دارد که یا فرآورده‌های حاصله در کشور تامین کننده پلازما بیش از حد نیاز باشد و یا این توافق منجر به کاهش هزینه پالایش شود.

فصل هفتم

منابع مورد استفاده

- ¹ 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
- ² Mousavi Hosseini K, Nasiri S. Preparation of factor VII concentrate using CNBr-activated Sepharose 4B immunoaffinity chromatography. Med J I.R. Iran 2015;29:170.
- ³ Mousavi Hosseini K, Nikougoftar ZM. Preparation of plasminogen by affinity chromatography. Iran J Blood Cancer 2014;6(4):163-7
- ⁴ Organization WH. Plasma fractionation programmes for developing countries: technical aspects and infrastructural requirements1999
- ⁵ Shooshtari MM, Mousavi Hosseini K. Evaluation of the plasma quality after filtration. Daru: journal of Faculty of Pharmacy, Tehran Univ Med Sci 2010;18(2):114-7
- ⁶ Plasma Proteins Manufacturing, Plasma Proteins Therapeutics Association (PPTA), www ppta org. Washington DC, 2008
- ⁷ Robert P. Worldwide supply and demand of plasma and plasma-derived medicines. Iran J Blood Cancer 2011; 3(3): 111-20
- ⁸ Burnouf T. Plasma proteins: unique biopharmaceuticals–unique economics. Pharmaceuticals policy and law. 2005; 7: 209-18.
- ⁹ World Health Organization (WHO). Guidance on increasing supplies of plasma-derived medicinal products in low-and middle-income countries through fractionation of domestic plasma; 2021. p. 124-6.
- ¹⁰ Cheraghali AM, Abolghasemi H. Improving availability and affordability of plasma-derived medicines. Biologicals. 2010 Jan;38(1):81-6.
- ¹¹ Paul F. W. Strengers, Clinical application of plasma derived medicines: current situation and future trend, IRANIANJOURNAL OF BLOOD AND CANCER, volume3 number 3, 159-169, 2011
- ¹² Rajnish KJ, Chakravorty N, Chakravorty D, Bhattacharya PK, Yadava A, Agarwal RC. Albumin: an overview of its place in current clinical practice. Indian Journal of Anaesthesia 2004;48:433–6.
- ¹³ Fanali G, Di Masi A, Trezza V, Marino M, Fasano M, Ascenzi P. Human serum albumin: from bench to bedside. Mol Aspects Med 2012;33(3):209-90
- ¹⁴ Mousavi Hosseini K, Nasiri S, Heidari M. Separation of Albumin from the Human Plasma by Ethanol and Low Temperature. J Advances in Med Biomed Res 2013;21(85):74-84
- ¹⁵ Organization WH. Plasma fractionation programmes for developing countries: technical aspects and infrastructural requirements1999.
- ¹⁶ Fanali G, Di Masi A, Trezza V, Marino M, Fasano M, Ascenzi P. Human serum albumin: from bench to bedside. Mol Aspects Med 2012;33(3):209-90.

- ¹⁷ Nazari S, Jalili MA, Shahabi M, Fallah Tafti M, Nasiri S, Mouradi M, et al. Virus reduction of human plasma-derived biological medicines. *Jundishapur J Nat Pharm Prod* 2017;12:e13943
- ¹⁸ Tencer T, Friedman HS, Li-McLeod J, Johnson K. Medical costs and resource utilization for hemophilia patients with and without HIV or HCV infection. *Journal of Managed Care Pharmacy* 2007;13:790–8.
- ¹⁹ Baru M, Carmel-Goren L, Barenholz Y, et al. Factor VIII efficient and specific non-covalent binding to PEGylated liposomes enables prolongation of its circulation time and haemostatic efficacy. *Thromb Haemost.* 2005;93(6):1061-1068
- ²⁰ Burnouf-Radosevich M, Burnouf T: Chromatographic preparation of a therapeutic highly purified von Willebrand factor concentrate from human cryoprecipitate. *Vox Sang* 62:1 - 11, 1992
- ²¹ Burnouf T, Michalski C, Goudemand M, et al: Properties of a highly purified human plasma factor IX:c therapeutic concentrate prepared by conventional chromatography. *Vox Sang* 57:225 - 232, 1989
- ²² Kasper CK, Costa e Silva M: Registry of clotting factor concentrates. Montré'al, World Federation of Hemophilia, 2005, pp 1-13
- ²³ Radosevich M, Goubran HA, Burnouf T: Fibrin sealant: Scientific rationale, production methods, properties, and current clinical use. *Vox Sang* 72:133 - 143, 1997
- ²⁴ Pejaudier L, Kichenin-Martin V, Boffa MC, et al: Appraisal of the protein composition of prothrombin complex concentrates of different origins. *Vox Sang* 52:1 - 9, 1987
- ²⁵ Burnouf T: Chromatography in plasma fractionation: benefits and future trends. *J Chromatogr B Biomed Appl* 664:3 -15, 1995
- ²⁶ Pejaudier L, Kichenin-Martin V, Boffa MC, et al: Appraisal of the protein composition of prothrombin complex concentrates of different origins. *Vox Sang* 52:1 - 9, 1987
- ²⁷ Dickneite G, Metzner HJ, Kroez M, et al: The importance of factor XIII as a component of fibrin sealants. *J Surg Res* 107:186- 195, 2002
- ²⁸ Peitsch MC, Kress A, Lerch PG, et al: A purification method for apolipoprotein A-I and A-II. *Anal Biochem* 178:301- 305, 1989
- ²⁹ Orthner CL, Ralston AH, Gee D, et al: Large-scale production and properties of immunoaffinity-purified human activated protein C concentrate. *Vox Sang* 69:309 - 318
- ³⁰ Radosevich M, Zhou FL, Huart JJ, et al: Chromatographic purification and properties of a therapeutic human protein C concentrate. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 790:199- 207, 2003
- ³¹ Kluszczynski, T; Rohr, S; Ernst R. Key Economic and Value Considerations for Plasma-Derived Medicinal Products (PDMPs) in Europe. *Ppta.* 2020;
- ³² Cohn EJ, Strong LE, Hughes WL, Mulford DJ, Ashworth JN, Melin M, et al. Preparation and Properties of Serum and Plasma Proteins. IV. A System for the Separation into Fractions of the Protein and Lipoprotein Components of Biological Tissues and Fluids. *J Am Chem Soc* 1946; 68(3): 459-75.

- ³³ European Medicines Agency. Guideline on plasma-derived medicinal products. Vol. 44, EMA Guideline. 2011. p.1–33.
- ³⁴ Schmidt PJ. The plasma wars: a history. Transfusion [Internet]. 2012 May;52:2S-4S. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1537-2995.2012.03689.x>
- ³⁵ Curling J, Bryant C. The Plasma Fractionation Industry New Opportunities To Move Forward? BioProcess Int 2005; 18.
- ³⁶ Hughes, W.L., Interstitial proteins: The proteins of blood plasma and lymph, in The Proteins, ed. H.Neurath and K. Bailey, Volume II, Part B., Chapter 21, pps. 663-754, Academic Press, New York, New York, USA, 1953.
- ³⁷ Edsall, J. T., The development of the physical chemistry of proteins, 1898-1940, Ann.N.Y.Acad.Sci. 325, 52-74, 1979
- ³⁸ Cohn EJ, Henderson LJ. The physical chemistry of bread making. Science 1918; 48(1247): 501-5.
- ³⁹ Cohn EJ. Studies in the physical chemistry of the proteins: i. The solubility of certain proteins at their isoelectric points. J Gen Physiol 1922; 4(6): 697-722.
- ⁴⁰ Cohn EJ, McMeekin TL, Edsall JT, Weare JH. Studies in the physical chemistry of amino acids, peptides and related substances. II. The solubility of α -amino acids in water and in alcohol water mixtures. J Am Chem Soc 1934; 56(11): 2270-82.
- ⁴¹ Cohn EJ, Strong LE, Hughes WL, Mulford DJ, Ashworth JN, Melin M, et al. Preparation and Properties of Serum and Plasma Proteins. IV. A System for the Separation into Fractions of the Protein and Lipoprotein Components of Biological Tissues and Fluids. J Am Chem Soc 1946; 68(3): 459-75.
- ⁴² Curling JM. Methods of plasma protein fractionation. J M Curling ed. London , United Kingdom: Academic Press INC; 1980. p. 148-50.
- ⁴³ Anon, Byproducts of plasma fractionation. General consideration, in Blood Programs in World War II, ed. G.B. Kendrick, Chapter 13, pps. 350-369, Superintendent of Documents, U.S. Government Printing Office, Washington, DC, 1964.
- ⁴⁴ Palmer, J.W., The evolution of large-scale human plasma fractionation in the United States, in Proceedings of the Workshop on Albumin, February 12-13, 1975, DHEW Publication No. (NIH) 76-925. pps. 255-268, U.S.Government Printing Office, Washington, DC, USA, 1975.
- ⁴⁵ Hink,J.H., Jr., Hidalgo, J., Seeberg, V.P., and Johnson, F.F., Preparation and properties of heat-treated plasma protein fraction, Vox.Sang. 2, 174-178, 1957.
- ⁴⁶ Rosendaal FR, Smitt C, Varekamps I. Modern haemophilia treatment : medical improvements and quality of life. 1990;633– 40.
- ⁴⁷ Curling, J. and Bryant, C., The plasma fractionation industry. New opportunities to move forward?, Bioprocess International, March, pps. 18-27, 2005.

- ⁴⁸ Mercier Ythier J. The contested market of plasma. *Transfus Clin Biol* [Internet]. 2020;27(1):52–7. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.tracli.2019.10.003>
- ⁴⁹ Prevot J, Jolles S. Global immunoglobulin supply: Steaming towards the iceberg? *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2020;20(6):557–64
- ⁵⁰ Starr, Douglas, *Blood, an Epic History of Medicine and Commerce*, Alfred Knopf, New York, 1999
- ⁵¹ The Plasma Fractions Market in Japan 2009, in *The Plasma Fractions Market in Asia & Pacific – 2009*, The Marketing Research Bureau, Orange, Connecticut, 2011
- ⁵² Cheraghali, A.M. and Abolghasemi, H., Improving availability and affordability of plasma-derived medicines, *Biologicals* 38, 81-86, 2010.
- ⁵³ Farrugia, A., Evers, T., Falcon, P.-F., et al., Plasma fractionation issues, *Biologicals* 37, 88-93, 2009.
- ⁵⁴ Burnouf T, Goubran HA, Radosevich M, et al: A minipool process for solvent-detergent treatment of cryoprecipitate at blood centres using a disposable bag system. *Vox Sang* 91:56 - 62, 2006
- ⁵⁵ Lundblad RL. *Biotechnology of plasma proteins*. 2012
- ⁵⁶ Cohn EJ, Strong LE, Hughes WL, Mulford DJ, Ashworth JN, Melin M, et al. Preparation and Properties of Serum and Plasma Proteins. IV. A System for the Separation into Fractions of the Protein and Lipoprotein Components of Biological Tissues and Fluids. *J Am Chem Soc* 1946; 68(3): 459-75.
- ⁵⁷ Curling JM. *Methods of plasma protein fractionation*. J M Curling ed. London , United Kingdom: Academic Press INC; 1980. p. 148-50.
- ⁵⁸ Cohn EJ, Strong LE, Hughes WL, Mulford DJ, Ashworth JN, Melin M, et al. Preparation and Properties of Serum and Plasma Proteins. IV. A System for the Separation into Fractions of the Protein and Lipoprotein Components of Biological Tissues and Fluids. *J Am Chem Soc* 1946; 68(3): 459-75.
- ⁵⁹ Pennell R. *Fractionation and Isolation of Purified Components by Precipitation Methods*. 1960.
- ⁶⁰ Tanaka K, Shigueoka EM, Sawatani E, Dias GA, Arashiro F, Campos TC, et al. Purification of human albumin by the combination of the method of Cohn with liquid chromatography. *Braz J Med Biol Res* 1998; 31(11): 1383-8.
- ⁶¹ Curling JM. *Methods of plasma protein fractionation*. J M Curling ed. London , United Kingdom: Academic Press INC; 1980. p. 148-50
- ⁶² Lundblad RL. *Biotechnology of plasma proteins*. 2012
- ⁶³ Grabowski H. Key economic and value considerations in the U.S. market for plasma protein therapies. 2018;(February).
- ⁶⁴ Kluszczynski, T; Rohr, S; Ernst R. Key Economic and Value Considerations for Plasma-Derived Medicinal Products (PDMPs) in Europe. *Ppta*. 2020;
- ⁶⁵ Grabowski H. Key economic and value considerations in the U.S. market for plasma protein therapies. 2018;(February).

- ⁶⁶ Siegel J. The product: All intravenous immunoglobulins are not equivalent. *Pharmacotherapy*. 2005;25(11 II)
- ⁶⁷ Control Authority Batch Release of Vaccines and Blood Products, European Union's Administrative Procedure for Official Authority Batch Release, European Directorate for the Quality of Medicine and HealthCare, Council of Europe, Strasbourg, 2010
- ⁶⁸ Burgstaler E: Current instrumentation for apheresis. *Apheresis: Principles and practice* (ed 2). Bethesda, MD, AABB Press, 2003, pp 95- 130
- ⁶⁹ Burnouf T, Kappelsberger C, Frank K, et al: Residual cell content in plasma from 3 centrifugal apheresis procedures. *Transfusion* 11:1522 - 1526, 2003
- ⁷⁰ Burnouf, T., Plasma proteins: Unique biopharmaceuticals - Unique economics, *Pharmaceutical Policy & Law* 7, 209-218, 2005-2006.
- ⁷¹ Curran, L.M., Waste minimization procedures in the petroleum industry, *J.Hazardous Mat.* 29, 189-197, 1992.
- ⁷² WHO:Quality Assurance of Pharmaceuticals. A Compendium of Guidelines and Related Materials, Good Manufacturing Practices and Inspection , Volumn 2, Second Updated Edition. Geneva, WHO, 2007
- ⁷³ Nasiri S, Mousavi Hosseini K. Effects of centrifugation speed on platelet aggregation activity. *Koomesh* 2014;15(2):250-4.
- ⁷⁴ Clement S. Techniques of preparation and indications of labile blood products. *Transfus Clin Biol* 2011;18(2):250-61.
- ⁷⁵ Mahmoodian Shooshtari M, Mousavi Hosseini K. Evaluation of the plasma quality after filtration. *DARU* 2010;18(2):114-7
- ⁷⁶ 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.
- ⁷⁷ 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.
- ⁷⁸ Solheim BG, Seghatchian J. Update on pathogen reduction technology for therapeutic plasma: an overview. *Transfus Apher Sci* 2006;35(1):83-90.
- ⁷⁹ Lozano M, Cid J. Pathogen inactivation: coming of age. *Curr Opin Hematol* 2013;20(6):540-5.
- ⁸⁰ Cheraghali AM, Abolghasemi H. Plasma fractionation, a useful means to improve national transfusion system and blood safety: Iran experience. *Haemophilia* (2009), 15, 487–493
- ⁸¹ Weinberg PD. Legal, financial, and public health consequences of HIV contamination of blood and blood products in the 1980s and 1990s. *Ann Intern Med* 2002; 136: 312–9.
- ⁸² Wilson K. Variant Creutzfeldt-Jakob disease and the Canadian blood system after the tainted blood tragedy. *Soc Sci Med* 2007; 64: 174–85.

- ⁸³ Weinberg PD. Legal, financial, and public health consequences of HIV contamination of blood and blood products in the 1980s and 1990s. *Ann Intern Med* 2002; 136: 312–9.
- ⁸⁴ Roberts PL. Virus elimination during the recycling of chromatographic columns used during the manufacture of coagulation factors. *Biologicals* 2014;42(4):184-90.
- ⁸⁵ 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.
- ⁸⁶ 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.
- ⁸⁷ 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
- ⁸⁸ 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.
- ⁸⁹ 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
- ⁹⁰ 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.
- ⁹¹ Klamroth R, Gröner A, Simon TL. Pathogen inactivation and removal methods for plasma-derived clotting factor concentrates. *Transfusion* 2014;54(5):1406-17.
- ⁹² 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.
- ⁹³ 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.
- ⁹⁴ 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.
- ⁹⁵ 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.
- ⁹⁶ 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.
- ⁹⁷ 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.

- ⁹⁸ 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.
- ⁹⁹ 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
- ¹⁰⁰ 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.
- ¹⁰¹ 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.
- ¹⁰² Furuya K, Murai K, Yokoyama T, Maeno H, Takeda Y, Murozuka T, et al. Implementation of a 20-nm pore-size filter in the plasmaderived factor VIII manufacturing process. *Vox Sang* 2006;91(2):119-25.
- ¹⁰³ Burnouf T, Goubran HA, Radosevich M, Sayed MA, Gorgy G, ElEkiaby 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
- ¹⁰⁴ 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.
- ¹⁰⁵ Madani TA, Abuelzein el-TM, Azhar EI, Al-Bar HM. Thermal inactivation of Alkhumra hemorrhagic fever virus. *Arch Virol* 2014;159(10):2687-91.
- ¹⁰⁶ 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.
- ¹⁰⁷ Cardone F, Simoneau S, Arzel A, Puopolo M, Berardi VA, AbdelHag H, et al. Comparison of nanofiltration efficacy in reducing infectivity of centrifuged versus ultracentrifuged 263K scrapieinfected brain homogenates in "spiked" albumin solutions. *Transfusion* 2012;52(5):953-62.
- ¹⁰⁸ Horowitz B, Wiebe ME, Lippin A, et al: Inactivation of viruses in labile blood derivatives. I. Disruption of lipidenveloped viruses by tri(n-butyl)phosphate detergent combinations. *Transfusion* 25:516 - 522, 1985
- ¹⁰⁹ Nowak T, Niedrig M, Bernhardt D, et al: Inactivation of HIV, HBV, HCV related viruses and other viruses in human plasma derivatives by pasteurisation. *Dev Biol Stand* 81:169 - 176, 1993
- ¹¹⁰ Ng PK, Dobkin MB: Pasteurization of antihemophilic factor and model virus inactivation studies. *Thromb Res* 39:439 - 447, 1985
- ¹¹¹ Dichtelmuller H, Rudnick D, Kloft M: Inactivation of lipid enveloped viruses by octanoic acid treatment of immunoglobulin solution. *Biologicals* 30:135 - 142, 2002
- ¹¹² Burnouf T, Radosevich M: Nanofiltration of plasmaderived biopharmaceutical products. *Haemophilia* 9:24 - 37, 2003

- ¹¹³ WHO Guidelines on Tissue Infectivity Distribution in Transmissible Spongiform Encephalopathies, 2006; available at <http://www.who.int/bloodproducts/cs/TSEPUBLISHEDREPORT.pdf>
- ¹¹⁴ Burnouf T, Padilla A: Current strategies to prevent transmission of prions by human plasma derivatives. *Transfus Clin Biol* 2006;13:320–28
- ¹¹⁵ WHO: WHO Guidelines on Tissue Infectivity Distribution in Transmissible Spongiform Encephalopathies, 2006; available at <http://www.who.int/bloodproducts/cs/TSEPUBLISHEDREPORT.pdf>
- ¹¹⁶ WHO Guidelines on Tissue Infectivity Distribution in Transmissible Spongiform Encephalopathies, 2006; available at <http://www.who.int/bloodproducts/cs/TSEPUBLISHEDREPORT.pdf>
- ¹¹⁷ Flan B, Aubin JT: Evaluation de l'efficacité des procédés de purification des protéines plasmatiques à éliminer les agents transmissibles non conventionnels. *Virologie* 9:S45-S56, 2005
- ¹¹⁸ 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.
- ¹¹⁹ 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.
- ¹²⁰ Pourmokhtar M, Dinarvand R, Mousavi Hosseini K, Rezvan H, Jalili MA. Solvent-detergent treatment of IgM-enriched immunoglobulin. *DARU* 2003;11(2):47-51.
- ¹²¹ Burnouf T. Plasma proteins: unique biopharmaceuticals—unique economics. *Pharmaceuticals policy and law*. 2005; 7: 209-18
- ¹²² World Health Organization (WHO). Guidance on increasing supplies of plasma-derived medicinal products in low-and middle-income countries through fractionation of domestic plasma; 2021. p. 124-6.
- ¹²³ Burnouf T. Plasma proteins: unique biopharmaceuticals—unique economics. *Pharmaceuticals policy and law*. 2005; 7: 209-18.
- ¹²⁴ Cheraghali AM, Aboofazeli R. Economical impact of plasma fractionation project in Iran on affordability of plasma-derived medicines. *Transfus Med* 2009; 19(6): 363-8
- ¹²⁵ Brand A, De Angelis V, Vuk T, Garraud O, Lozano M, Politis D. Review of indications for immunoglobulin (IG) use: Narrowing the gap between supply and demand. *Transfus Clin Biol* 2021; 28(1): 96-122.
- ¹²⁶ Burnouf T, Epstein J, Faber JC. Recovered plasma for fractionation: call for quality standards to end wastage. *Vox Sang* 2020; 115(2): 213-4
- ¹²⁷ Burnouf T, Faber JC, Radosevic M, Goubran H, Seghatchian J. Plasma fractionation in countries with limited infrastructure and low-/medium income: How to move forward? *Transfus Apher Sci* 2020; 59(1): 102715.

- ¹²⁸ Brand A, De Angelis V, Vuk T, Garraud O, Lozano M, Politis D. Review of indications for immunoglobulin (IG) use: Narrowing the gap between supply and demand. *Transfus Clin Biol* 2021; 28(1): 96-122.
- ¹²⁹ Burnouf T. Plasma proteins: unique biopharmaceuticals—unique economics. *Pharmaceuticals policy and law*. 2005; 7: 209-18.
- ¹³⁰ Farrugia A, Scaramuccia D. The dynamics of contract plasma fractionation. *Biologicals* [Internet]. 2017;46:159–67. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biologicals.2017>
- ¹³¹ Burnouf T, Faber J, Radosevic M, Goubran H. Transfusion and Apheresis Science Plasma fractionation in countries with limited infrastructure and low- / medium income : How to move forward ? *Transfus Apher Sci* [Internet]. 2019;(xxxx):102715. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.transci.2019.102715>
- ¹³² Farrugia A, Scaramuccia D. The dynamics of contract plasma fractionation. *Biologicals* [Internet]. 2017;46:159–67. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biologicals.2017>.
- ¹³³ Mercier Ythier J. The contested market of plasma. *Transfus Clin Biol* [Internet]. 2020;27(1):52–7. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.traccli.2019.10.003>
- ¹³⁴ Hotchko M. Current Market Landscape For Methodology And Immunoglobulins. In 2022
- ¹³⁵ Prevot J, Jolles S. Global immunoglobulin supply: Steaming towards the iceberg? *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2020;20(6):557–64
- ¹³⁶ More A. Global plasma protein therapeutics market report 2021, Market report and insights, market value, cagr, Covid-19 impact, types, resources, market report rate, gross margin, share price, and forecast by 2021- 2025. *The Express Wire*: 2021 Jun 3 2021
- ¹³⁷ Lundblad RL. *Biotechnology of plasma proteins*. 2012.
- ¹³⁸ Finlayson JS. Therapeutic plasma fractions and plasma fractionation (prologue). *Semin Thromb Hemost* 1979; 6(1): 1-11
- ¹³⁹ Schneider W, Lefèvre H, Fiedler H, McCarty LJ. An alternative method of large scale plasma fractionation for the isolation of serum albumin. *Blut* 1975; 30(2): 121-34
- ¹⁴⁰ Robert P. Global plasma demand in 2015. *Pharmaceuticals, Policy and Law* 2009; 11: 359-67.
- ¹⁴¹ Robert P. Worldwide supply and demand of plasma and plasma-derived medicines. *Iran J Blood Cancer* 2011; 3(3): 111-20.
- ¹⁴² Robert P. Global plasma demand in 2015. *Pharmaceuticals, Policy and Law* 2009; 11: 359-67.
- ¹⁴³ Brand A, De Angelis V, Vuk T, Garraud O, Lozano M, Politis D. Review of indications for immunoglobulin (IG) use: Narrowing the gap between supply and demand. *Transfus Clin Biol* 2021; 28(1): 96-122

- ¹⁴⁴ De Silvestro G, Marson P, Breda A, De Angelis V. Plasma-derived industry and plasma-derived medicinal products in the Italian National Blood Transfusion Service. *Transfus Apher Sci* 2019; 58(5): 545-9.
- ¹⁴⁵ Robert P. Global plasma demand in 2015. *Pharmaceuticals, Policy and Law* 2009; 11: 359-67.
- ¹⁴⁶ Burnouf T. Plasma proteins: unique biopharmaceuticals—unique economics. *Pharmaceuticals policy and law*. 2005; 7: 209-18.
- ¹⁴⁷ Cheraghali AM. Availability of blood components and plasma derived medicines in Iran. *Transfus Apher Sci* 2007; 37(1): 3-7.
- ¹⁴⁸ Curling J, Bryant C. The Plasma Fractionation Industry New Opportunities To Move Forward? *BioProcess Int* 2005; 18
- ¹⁴⁹ Lundblad RL. *Biotechnology of plasma proteins*. 2012
- ¹⁵⁰ Aghaie A, Pourfatollah A, Bathaie S, Moazzeni S, Pour H, Banazadeh S. Preparation, purification and virus inactivation of intravenous immunoglobulin from human plasma. *Hum Antibodies* 2010; 19(1): 1-6.
- ¹⁵¹ Robert P. Worldwide supply and demand of plasma and plasma-derived medicines. *Iran J Blood Cancer* 2011; 3(3): 111-20
- ¹⁵² Robert P. Worldwide supply and demand of plasma and plasma-derived medicines. *Iran J Blood Cancer* 2011; 3(3): 111-20
- ¹⁵³ Schlegel A, Immelmann A, Kempf C. Virus inactivation of plasma-derived proteins by pasteurization in the presence of guanidine hydrochloride. *Transfusion* 2001; 41(3): 382-9.
- ¹⁵⁴ Pamphilon D. Viral inactivation of fresh frozen plasma. *British journal of haematology*. 2000;109(4):680-93.
- ¹⁵⁵ Hoots WK. History of plasma-product safety. *Transfus Med Rev* 2001; 15(2 Suppl 1): 3-10
- ¹⁵⁶ Farrugia A. International movement of plasma and plasma contracting. *Dev Biol (Basel)* 2005; 120: 85-96
- ¹⁵⁷ Trejo S, Hotta J, Lebing W, et al. Evaluation of virus and prion reduction in a new intravenous immunoglobulin manufacturing process. *Vox Sang* 2003; 84(3): 176-87
- ¹⁵⁸ Fricke WA, Lamb MA. Viral safety of clotting factor concentrates. *Semin Thromb Hemost* 1993; 19(1): 54- 61
- ¹⁵⁹ Parkkinen J, Rahola A, Von Bonsdorff L, Tölö H, Törmä E. A modified caprylic acid method for manufacturing immunoglobulin G from human plasma with high yield and efficient virus clearance. *Vox Sang* 2006; 90(2): 97-104.
- ¹⁶⁰ Velthove KJ, Over J, Abbink K, Janssen MP. Viral safety of human plasma-derived medicinal products: Impact of regulation requirements. *Transfus Med Rev* 2013; 27(3): 179-83.

- ¹⁶¹ Pamphilon D. Viral inactivation of fresh frozen plasma. British journal of haematology. 2000;109(4):680-93
- ¹⁶² Remington K, Trejo S, Buczynski G, et al. Inactivation of West Nile virus, vaccinia virus and viral surrogates for relevant and emergent viral pathogens in plasmaderived products. Vox Sang 2004; 87(1): 10-8.
- ¹⁶³ Remington K, Trejo S, Buczynski G, et al. Inactivation of West Nile virus, vaccinia virus and viral surrogates for relevant and emergent viral pathogens in plasmaderived products. Vox Sang 2004; 87(1): 10-8.
- ¹⁶⁴ Tang JW, Shetty N, Lam TT, Hon KE. Emerging, novel, and known influenza virus infections in humans. Infect Dis Clin 2010; 24(3): 603-17
- ¹⁶⁵ Lundblad RL. Biotechnology of plasma proteins. 2012
- ¹⁶⁶ Aghaie A, Pourfatollah A, Bathaie S, Moazzeni S, Pour H, Banazadeh S. Preparation, purification and virus inactivation of intravenous immunoglobulin from human plasma. Hum Antibodies 2010; 19(1): 1-6.
- ¹⁶⁷ Mantovani LG, Monzini M, Mannucci P, et al. Differences between patients', physicians' and pharmacists' preferences for treatment products in haemophilia: a discrete choice experiment. Haemophilia 2005; 11(6): 589-97
- ¹⁶⁸ Bodrogi J, Kaló Z. Principles of pharmacoeconomics and their impact on strategic imperatives of pharmaceutical research and development. Br J Pharmacol 2010; 159(7): 1367-73.
- ¹⁶⁹ Lundblad RL. Biotechnology of plasma proteins. 2012
- ¹⁷⁰ Farrugia A: International movement of plasma and plasma contracting. Dev Biol (Basel) 2005; 120 :85-96
- ¹⁷¹ WHO: Recommendations for the Production, Quality Control and Regulation of Plasma for Fractionation, 2005; available at <http://www.who.int/bloodproducts>
- ¹⁷² Burnouf T: Chromatography in plasma fractionation: benefits and future trends. J Chromatogr B Biomed Sci Appl 1995; 664: 3-15
- ¹⁷³ CHMP: Guideline on Requirements for Plasma Master File (PMF) Certification. CPMP/BWP/4663/03, 2004; available at <http://www.emea.europa.eu/pdfs/human/bwp/466303en.pdf>
- ¹⁷⁴ CHMP: Guideline on the Scientific Data Requirements for a Plasma Master File (PMF). EMEA/CPMP/BWP/3794/03, 2004; available at <http://www.emea.europa.eu/pdf/human/bwp/373403en.pdf>



Plasma & Plasma Fractionation industry

Dr. Ali asghar Safari fard (PhD)