



سازمان غذا و دارو

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در فرآورده‌های بیولوژیک انسانی



سازمان غذا و دارو

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

جدول توزیع نسخ

تعداد سند	محل نگهداری	
۱ نسخه	اداره بیولوژیک	نسخه اصلی
۱ نسخه	واحد سیستم مدیریت کیفیت	نسخه کپی

این نسخه، تحت کنترل و غیر قابل تغییر است.

هر گونه تغییر در این سند، باید بر اساس SOP-DPNA-BIO-001 انجام شود.

تعداد کل صفحات این دستورالعمل ۱۸۳ صفحه می باشد.

تاریخچه بازنگری

شماره بازنگری	تاریخ بازنگری	شرح مختصر بازنگری	صفحات مورد بازنگری

*کارشناسان باید از معتبر بودن آخرین نسخه این سند اطمینان حاصل کنند.

سازمان غذا و دارو

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

فهرست مطالب

- ۱- فهرست و توضیح اختصارات (Abbreviation)، مخفف‌ها/ واژه‌ها (Acronym)
- ۲- اصطلاحات (Terms) و توضیحات
 - ۱-۲- فارماکوپه ایالات متحده آمریکا (United States Pharmacopeia; USP)
 - ۲-۲- آیین‌نامه فدرال ایالات متحده (Code of Federal Regulations; CFR)
 - ۳-۲- فرآورده‌های خونی (Blood product)
 - ۴-۲- محصولات زیست‌فناوری (Biotechnology Product)/فرآورده‌های حاصل از فناوری DNA نو ترکیب (Products of recombinant technology)
 - ۵-۲- فرآورده زیست‌دارویی (Biopharmaceutical)
 - ۶-۲- فرآورده زیستی (Biological Product)
 - ۷-۲- فرآورده‌های سلول درمانی و ژن درمانی (Cell Gene Therapy Products (CGTPs))
 - ۲-۸- ماده زیستی (Biological substance)
 - ۲-۹- محصولات/فرآورده‌های جانبی حیوانی (Animal by-products)
 - ۲-۱۰- انجمن بین‌المللی صنعت سرم (انجمن/سازمان مرتبط با تولید و تأمین سرم‌های حیوانی برای کاربردهای آزمایشگاهی/صنعت بیوتکنولوژی) (ISIA)
 - ۱۱-۲- شماره تأیید (Approval number)
 - ۱۲-۲- تأیید تأسیسات یا واحدهای صنعتی (approval of establishments or plants)
 - ۱۳-۲- آرتیوداکتیل (Artiodactyla)
 - ۱۴-۲- بچ/سری (Batch)
 - ۱۵-۲- تفاوت Batch (بچ/سری) و Lot (لات)
 - ۱۶-۲- آلبومین سرم گاوی (BSA)
 - ۱۷-۲- سرم گاوی (Bovine Serum)
 - ۱-۱۷-۲- سرم گوساله تازه متولد شده گاوی (Neo-Natal Bovine Calf Serum – NNBCS)
 - ۲-۱۷-۲- سرم گوساله نوزاد گاوی (Newborn Bovine Calf Serum – NBCS)
 - ۳-۱۷-۲- سرم گوساله گاوی (Bovine Calf Serum – BCS)
 - ۴-۱۷-۲- سرم گاوی منبع گرفته از دام‌دهنده (Donor-sourced Bovine Serum – DBS)
 - ۵-۱۷-۲- سرم گاوی بالغ (Adult Bovine Serum – ABS)
 - ۶-۱۷-۲- آنالوگ سرم گاوی بالغ (Adult Bovine Serum Analog (ABSA)
 - ۱۸-۲- سرم جنینی گاوی (Fetal Bovine Serum – FBS)/سرم جنینی گوساله (FCS)
 - ۱-۱۸-۲- سرم جنینی گاوی شفاف‌شده (Clarified FBS)
 - ۲-۱۸-۲- سرم جنینی گاوی فرآوری شده (Processed FBS)
 - ۳-۱۸-۲- سرم جنینی گاوی فیلتر استریل شده (Sterile Filtered FBS)
 - ۴-۱۸-۲- سرم جنین گاوی فیلتر شده به روش آسپتیک (Aseptically filtered FBS)
 - ۵-۱۸-۲- سرم جنین گاوی پیش‌صلاحیت‌شده (پیش‌ارزیابی شده) یا غربال شده (Pre-Qualified or Screened FBS)
 - ۶-۱۸-۲- سرم جنینی گاوی خاص (Specialty FBS)

سازمان غذا و دارو

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

- ۱-۶-۱-۲ Dialyzed FBS
 ۲-۶-۱۸-۲ Charcoal Stripped FBS
 ۳-۶-۱۸-۲ IgG-Stripped FBS
 ۴-۶-۱۸-۲ pH-Treated FBS
 ۵-۶-۱۸-۲ Performance-Enhanced FBS
 ۶-۶-۱۸-۲ Dehydrated FBS
 ۷-۶-۱۸-۲ Reconstituted FBS
 ۲-۱۹-۲ سرم تغییر یافته (Altered Serum)
 ۲-۲۰-۲ آن‌تی سرم (Antisera) / سرم ایمنی (Immune Serum)
 ۲-۲۱-۲ آنالوگ سرم گاوی بالغ (Adult Bovine Serum Analog):
 ۲-۲۲-۲ سرم اسب اهداکننده (Donor Horse Serum)
 ۲-۲۳-۲ سرم گوساله غنی شده با آهن (Iron Fortified Calf Serum; IFCS)
 ۲-۲۴-۲ بافت‌های با خطر مشخص (Specified Risk Material (SRM)
 ۲-۲۵-۲ کشور مبدأ / کشور خاستگاه (Country of origin; COO)
 ۲-۲۶-۲ محصولات مشتق شده (Derived products)
 ۲-۲۷-۲ محصول واسطه (Intermediate Product)
 ۲-۲۸-۲ تفاوت‌های Raw material, Starting material و Ancillary Material
 ۲-۲۹-۲ ماده اولیه (Raw Materials) از منظر رگولاتوری
- ۳- مقدمه
- ۳-۱ استفاده از سرم جنین گاوی در محصولات سلولی برای کاربردهای بالینی
- ۳-۲ سرم جنینی گاو (FBS)
- ۳-۳ سرم گوساله (Calf serum):
- ۳-۴ سرم گاوی بالغ (ABS)
- ۳-۴-۱ خطر آلودگی با عوامل بیماری‌زا
- ۳-۴-۲ خطر TSE/BSE
- ۳-۴-۳ تغییرپذیری بین بچ‌ها (Batch-to-Batch Variability)
- ۳-۴-۴ ترکیب نامشخص
- ۳-۴-۵ مسائل اخلاقی و تأمین
- ۳-۵ محیط‌های کشت عاری از سرم (Serum-Free Media (SFM)
- ۳-۶ محیط‌های عاری از جزء حیوانی (Animal-Component-Free Media (ACF)
- ۳-۷ محیط‌های با هویت معین ترکیبات شیمیایی (Chemically Defined Media (CDM):
- ۳-۸ دسته‌بندی سرم گاوی
- ۳-۹ ترکیب سرم جنین گاوی
- ۳-۱۰ ترکیبات موجود در سرم جنین گاوی
- ۳-۱۱ نگهداری و جابجایی FBS

سازمان غذا و دارو

عنوان			راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک
شماره	GUI-DPNA-BIO-014	تاریخ شروع اجراء	۱۴۰۵/۰۳/۰۱
شماره بازنگری	00	تاریخ اعتبار	-

- ۳-۱۲- ملاحظات ویژه در خصوص فرآورده‌های متداول مشتق شده از انسان با کاربرد استفاده در کشت سلول ۳-۱۲-۱- لیزات پلاکت انسانی (HPL)
- ۳-۱۲-۲- سرم انسانی (HS)
- ۳-۱۲-۳- پلاسما منبع (Source Plasma)
- ۳-۱۲-۴- آلبومین سرم انسانی (HSA)
- ۳-۱۲-۵- پروتئین‌های مشتق شده از انسان در محیط‌های کشت
- ۳-۱۳- تولید سرم جنین گاوی (Fetal Bovine Serum Production)
- ۳-۱۴- کاربرد سرم جنین گاوی (FBS) در تولید داروها و فرآورده‌های زیستی انسانی
- ۳-۱۵- جایگزین‌های سرم جنین گاوی (FBS) و محیط‌های کشت فاقد سرم
- ۴- چارچوب بندی نظارتی محصولات بر پایه سرم، استانداردهای بین‌المللی، چالش‌ها
- ۴-۱- مقایسه راهنماهای مواد جانبی بیولوژیک مورد استفاده در تولید محصولات ژن و سلول درمانی در آسیا
- ۴-۲- مقایسه گایدلاین‌های نظارتی و فارماکوپه‌ای در ایالات متحده، اتحادیه اروپا و کشورها و مناطق آسیایی
- ۴-۳- راهنماها (گایدلاین‌های) عمومی
- ۴-۴- راهنماهای مربوط به مواد بیولوژیک فرعی خاص
- ۴-۵- ارزیابی ریسک
- ۴-۶- آشنایی با مقررات مواد کمکی (فرعی، Ancillary Materials – AMs) در کشورها و مناطق آسیایی
- ۴-۶-۱- کشور چین (China)
- ۴-۶-۲- کشور هند (India)
- ۴-۶-۳- کشور ژاپن (Japan)
- ۴-۶-۴- کشور کره (Korea)
- ۴-۶-۵- کشور تایوان (Taiwan)
- ۴-۷- استانداردهای بین‌المللی در حوزه سرم
- ۴-۷-۱- سازمان غذا و داروی آمریکا (FDA)
- ۴-۷-۲- آژانس دارویی اروپا (EMA)
- ۴-۷-۳- اداره داروسازی و تجهیزات پزشکی ژاپن (PMDA)
- ۴-۷-۴- سازمان جهانی بهداشت (WHO)
- ۴-۷-۴-۱- توصیه‌هایی برای ارزیابی کشت‌های سلولی حیوانی به عنوان بستر در ساخت محصولات دارویی بیولوژیک و مشخصه‌یابی بانک‌های سلولی
- ۵- آژانس دارویی اروپا
- ۵-۱- خلاصه اجرایی
- ۵-۲- پیشینه
- ۵-۳- دامنه
- ۵-۴- انواع و منابع سرم
- ۵-۵- تهیه بچها (Preparation of batches)
- ۵-۶- گواهی آنالیز (Certificate of Analysis: COA)
- ۵-۷- آزمون برای عوامل ناخواسته (Adventitious Agents)
- ۵-۷-۱- آزمون‌های سترونی باکتریایی و قارچی

سازمان غذا و دارو

عنوان			شماره
راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			۱۴۰۵/۰۳/۰۱
GUI-DPNA-BIO-014			تاریخ شروع اجراء
00			تاریخ اعتبار
شماره بازنگری			-

۵-۷-۲- آزمون‌های شناسایی مولیکوت‌ها (Mollicutes)

۵-۷-۳- آزمون‌های شناسایی آلودگی‌های ویروسی

۵-۷-۴- آزمون‌های عمومی

۵-۷-۵- آزمون‌های اختصاصی برای ویروس‌های مشخص

۵-۷-۵-۱- توصیه در خصوص ویروس اسهال ویروسی گاوی (BVDV)

۵-۷-۵-۲- شناسایی آنتی‌بادی‌های ضد BVDV

۵-۷-۵-۳- سایر ویروس‌های گاوی

۵-۷-۶- آزمون‌های سمیت و رشد سلولی

۵-۷-۷- غیرفعال‌سازی ویروسی

۵-۸- الزامات پرونده برای درخواست/تغییرات مجوز بازاریابی

۶- آزمون‌ها

۶-۱- آزمون‌های سنجش سترونی و استرلیتی

۶-۱-۱- پارامترهای ارزیابی میکروبی

۶-۱-۱-۱- ارزیابی آلودگی باکتریایی

۶-۱-۱-۲- ارزیابی وجود آلودگی با قارچ و سنجش رشد آن در نمونه سرم کشت داده شده

۶-۱-۱-۳- آلودگی مایکوپلاسمایی

۶-۱-۱-۴- آلودگی اندوتوکسین باکتریایی

۶-۱-۱-۵- سنجش آلودگی ویروسی

۷- نکات کاربردی و خلاصه

۷-۱- تأییدیه‌های اولیه و اسناد (Documentation)

۷-۲- مدیریت زنجیره سرما و انبارداری (Storage & Handling)

۷-۳- کنترل آلودگی و استرلیته (Sterility Control)

۷-۴- استفاده در کشت سلول (Cell Culture Application)

۷-۵- پاکسازی و حذف سرم (Removal & Purification)

۷-۶- ملاحظات ردیابی (Traceability)

۷-۷- موارد کاربرد بالینی سرم

۸- استانداردهای لازم برای FBS بالینی

۸-۱- منشأ و ایمنی بیولوژیکی (Safety)

۸-۱-۱- تست‌های ویروسی

۸-۱-۱-۱- آدنوویروس گاوی (Bovine Adenovirus - BAdV)

۸-۱-۱-۲- ویروس عامل (BHV-1)

۸-۱-۱-۳- ویروس عامل بیماری «اسهال ویروسی گاوی» (BVDV)

۸-۱-۲- تست‌های میکروبی

۸-۱-۲-۱- مایکوپلازما

۹- تولید تحت استانداردهای GMP

۹-۱- منشأ و انتخاب گله (Herd Selection & Traceability)

سازمان غذا و دارو

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

- ۹-۲- جمع‌آوری استریل (Collection)
- ۹-۳- پردازش و تصفیه (Processing)
- ۹-۴- غیرفعال‌سازی ویروسی (Viral Inactivation)
- ۹-۵- کنترل کیفیت و تست‌ها (Quality Control Testing)
- ۹-۶- بسته‌بندی و برچسب‌گذاری (Packaging & Labeling)
- ۹-۷- مستندسازی (Documentation)
- ۹-۸- ممیزی و بازرسی (Audits)
- ۹-۸-۱- عدم وجود آنتی‌بیوتیک‌ها (Antibiotic-Free)
- ۹-۸-۲- عدم وجود مواد شیمیایی مضر (Absence of Harmful Chemicals)
- ۱۰- کیفیت شیمیایی و عملکردی
 - ۱۰-۱- کیفیت شیمیایی (Chemical Quality)
 - ۱۰-۱-۱- پروفایل پروتئینی (Protein Profile)
 - ۱۰-۱-۱-۱- آلبومین و گلوبولین
 - ۱۰-۱-۱-۱-۱- آلبومین (Albumin)
 - ۱۰-۱-۱-۱-۲- گلوبولین‌ها (Globulins)
 - ۱۰-۱-۱-۱-۳- نسبت آلبومین به گلوبولین (A/G Ratio)
 - ۱۰-۱-۲- غلظت یون‌ها و الکترولیت‌ها
 - ۱۰-۱-۲-۱- یون سدیم (Na⁺)
 - ۱۰-۱-۲-۲- یون پتاسیم (K⁺)
 - ۱۰-۱-۲-۳- یون کلر (Cl⁻)
 - ۱۰-۱-۲-۴- یون کلسیم (Ca²⁺)
 - ۱۰-۱-۲-۵- یون منیزیم (Mg²⁺)
 - ۱۰-۱-۲-۶- یون فسفات (PO₄³⁻)
 - ۱۰-۱-۳- اسمولالیت (Osmolality)
 - ۱۰-۱-۴- سطح قند (Glucose/Lactate)
 - ۱۰-۱-۴-۱- سطح گلوکز (Glucose Level)
 - ۱۰-۱-۴-۲- نسبت گلوکز به لاکتات (Glucose/Lactate Ratio)
 - ۱۰-۱-۴-۳- روش‌های اندازه‌گیری pH
 - ۱۰-۱-۵- pH
 - ۱۰-۱-۶- متابولیت‌های مضر
 - ۱۰-۱-۶-۱- لاکتات (Lactate)
 - ۱۰-۱-۶-۲- آمونیاک (Ammonia)
 - ۱۰-۱-۶-۳- لاکتات دهیدروژناز (LDH - Lactate Dehydrogenase)
 - ۱۰-۱-۶-۴- اوره (Urea)
 - ۱۰-۱-۶-۵- اسیدهای چرب آزاد (Free Fatty Acids - FFAs)



سازمان غذا و دارو

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

(Pyruvate) ١٠-١-٦-٦ - بيروات

۷-۶-۱-۱۰- آلدولاز (Aldolase) و سایر آنزیم‌های سلولی

۲-۱۰- کیفیت عملکردی (Functional Quality) سرم

۱-۲-۱۰- تست ارتقای رشد سلولی (Cell Growth Promotion Assay)

۲-۲-۱۰- تست چسبندگی سلولہ (Cell Attachment Efficiency)

۳-۲-۱۰- تست کلون زایی (Clonogenic Efficiency)

٤-٢-١٠- تست سمیت (Cytotoxicity)

۳-۱۰- کنترل کیفیت قبل از استفاده از سرم

۱-۳-۱۰- یاز (سی، فیزیکی) (Physical Inspection)

۲-۳-۱۰- بررسی پس از باز کردن (Post-Thaw Inspection)

۳-۳-۱۰- تست‌های میکروبیولوژی (Microbiological Testing)

۴-۳-۱۰- تست عملکردی (Functional Testing - Cell Growth Assay)

۵-۳-۱۰- تست‌های ایمنی ویروسی (برای FBS گرید بالینی)

۶-۳-۱۰- تست‌های شیمیایی سریع (Rapid Chemical Tests)

۷-۳-۱۰- مدیریت ریسک (Risk Management)

٤-١٠- نکات بالینی و تنظیمات خاص

۱-۴-۱۰- عدم استفاده از آنتی بیوتیک

۲-۴-۱۰- در صورت استفاده در محصولات بالینی عدم آلودگی Cross-Species حائز اهمیت است

3-4-10- خطر انتقال بیماری‌های مشترک (Zoonotic Diseases)

۴-۴-۱۰- استراتژی‌های تضمین عدم آلودگی Cross-Species

١-٤-٤-١- انتخاب منبع (Herd Selection & Geographical Origin)

۲-۴-۱۰- تست‌های ویروسی گسترده (Viral Safety Testing - ICH Q5A)

۳-۴-۱۰- غیرفعال سازی و حذف (Inactivation & Clearance)

۴-۴-۱۰- تست‌های اختصاصی پریون (Prion Reduction)

۵-۱۰- سایر ملاحظات

۱۱- پیوست‌ها

۱-۱۱- نمونه ای از فرم Certificate of Analysis (گواهی آنالیز) سرم با منشأ جنین گاوی (Fetal Bovine Serum: FBS)، از شرکت CORNING

Adult Bovine Serum برای Certificate of Analysis نمونه ۱۱-۲

۳-۱۱- برندهای پیشنهادی Clinical-Grade FBS

۱۲- فهرست منابع

سازمان غذا و دارو

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

۱- فهرست و توضیح اختصارات (Abbreviation)، مخفف‌ها/واژه‌ها (Acronym)

ABS	Adult Bovine Serum	سرم گاوی بالغ	سرم گاوی بالغ، سرمی که از خون گاوهای بالغ به‌دست می‌آید و در کشت سلولی، تولید فرآورده‌های زیستی و برخی کاربردهای تحقیقاتی و بیوتکنولوژیک به‌عنوان منبعی از پروتئین‌ها، فاکتورهای رشد و سایر ترکیبات مغذی استفاده می‌شود.
ABSA	Adult Bovine Serum Analog	آنالوگ سرم گاوی بالغ	آنالوگ سرم گاوی بالغ؛ فرآورده‌ای جایگزین که به‌صورت مصنوعی یا نیمه‌مصنوعی طراحی شده تا از نظر ترکیب و عملکرد، ویژگی‌های سرم گاوی بالغ را تقلید کند و معمولاً در محیط‌های کشت سلولی یا کاربردهای زیست‌فناورانه به‌عنوان جایگزین سرم طبیعی به‌کار می‌رود.
AM	Ancillary Material	مواد کمکی/فرعی	مواد کمکی، در فرایند تولید یا گسترش سلول استفاده می‌شوند در محصول نهایی حضور ندارند یا به مقدار بسیار ناچیز به‌صورت ناخواسته باقی می‌مانند و جزء ماده فعال (Active Substance) یا Excipient محصول نهایی نیستند اما کیفیت آن‌ها مستقیماً بر کیفیت، ایمنی و قابلیت تولید محصول تأثیر می‌گذارد
API	Active Pharmaceutical Ingredient	ماده مؤثره دارویی/ماده فعال دارویی	API جزء اصلی و فعال یک دارو است که اثر درمانی ایجاد می‌کند. این ماده همان ترکیبی است که، مسئول اثر فارماکولوژیک دارو است. در بدن با گیرنده‌ها یا مسیرهای بیوشیمیایی تعامل می‌کند. نتیجه درمانی، تسکینی، پیشگیری یا تشخیصی ایجاد می‌کند.
AS	Active Substance	ماده فعال دارویی/ماده فعال قبل از فرمولاسیون نهایی	ماده یا ترکیبی که دارای اثر فارماکولوژیک، ایمونولوژیک یا متابولیک بوده و مسئول اثر درمانی دارو است.
ATMP	Advanced Therapy Medicinal Product	محصولات درمانی پیشرفته (ژن‌درمانی، سلول‌درمانی و مهندسی بافت)	ATMP به گروهی از داروهای نوین زیستی گفته می‌شود که بر پایه ژن، سلول یا مهندسی بافت طراحی شده‌اند و برای درمان، پیشگیری یا تشخیص بیماری‌ها استفاده می‌شوند.
BSA	Bovine Serum Albumin	آلبومین سرم گاوی	Bovine Serum Albumin پروتئینی است که از سرم خون گاو (Bos taurus) استخراج می‌شود. این پروتئین فراوان‌ترین پروتئین موجود در پلاسما و سرم گاو است و حدود ۵۵-۶۵٪ کل پروتئین‌های سرم را تشکیل می‌دهد. از نظر رگولاتوری (Regulatory) و کنترل کیفیت (Quality)، استفاده از BSA در کشت سلول به‌عنوان یک ماده کمکی فرایندی (Ancillary Material / Process Raw Material) در نظر گرفته می‌شود.

سازمان غذا و دارو

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

BSE	Bovine Spongiform Encephalopathy	انسفالوپاتی اسفنجی شونده گاوی (بیماری جنون گاوی)	یک بیماری نورودژنراتیو کشنده در گاوها که در اثر پریون‌ها (Prions) ایجاد می‌شود. پریون‌ها پروتئین‌های غیرطبیعی هستند که باعث تخریب بافت مغز شده و ظاهر اسفنجی در مغز ایجاد می‌کنند.
BVD	Bovine Viral Diarrhea	اسهال ویروسی گاوی	یک بیماری عفونی ویروسی در گاوها که عامل آن BVDV – Bovine Viral Diarrhoea Virus است (از جنس Pestivirus). این ویروس می‌تواند باعث مشکلات جدی از قبیل اسهال و تب، کاهش وزن، سرکوب سیستم ایمنی، سقط جنین یا ناهنجاری‌های جنینی شود.
CEP	Certificate of Suitability	گواهی انطباق با فارماکوپه اروپا.	این گواهی توسط EDQM (European Directorate for the Quality of Medicines) صادر می‌شود و نشان می‌دهد که ماده مؤثره دارویی (Drug / Substance / API) با الزامات European Pharmacopoeia (Ph. Eur.) مطابقت دارد.
CGTPs	Cell and Gene Therapy Products	محصولات درمانی مبتنی بر سلول و ژن	این‌ها دسته‌ای از داروهای زیستی پیشرفته هستند که برای درمان بیماری‌ها با تغییر، جایگزینی یا اصلاح سلول‌ها یا ژن‌ها استفاده می‌شوند.
C o A/COA	Certificate of Analysis	گواهی آنالیز	گواهی آنالیز سندی رسمی و مختص هر سری ساخت است که توسط تولیدکننده یا یک آزمایشگاه معتبر صادر می‌شود و نتایج تمامی آزمون‌های انجام‌شده بر روی یک LOT مشخص را گزارش می‌کند. این گواهی تأیید می‌نماید که سری موردنظر با مشخصات از پیش تعریف‌شده شامل آزمون‌های هویت، خلوص، توان (Potency)، ایمنی و سایر ویژگی‌های کیفی مورد نیاز برای کاربرد ماده، انطباق دارد. CoA بخشی از مستندات کنترل کیفیت، ردیابی و انطباق رگولاتوری است و باید در سیستم کیفیت نگهداری شود.
C o O (COO)	Certificate of Origin	گواهی مبدأ	گواهی مبدأ سندی رسمی است که کشور مبدأ تولید یا تأمین ماده اولیه زیستی را تأیید می‌کند. این سند به منظور تضمین قابلیت ردیابی زنجیره تأمین و پشتیبانی از ارزیابی ریسک‌های ایمنی مرتبط با منشأ جغرافیایی، به‌ویژه در مورد مواد با منشأ حیوانی، مورد استفاده قرار می‌گیرد و بخشی از مستندات سیستم کیفیت محسوب می‌شود. برای مواد با منشأ حیوانی، این سند به منظور ردیابی زنجیره تأمین و همچنین پشتیبانی از ارزیابی ریسک رگولاتوری مرتبط با منشأ جغرافیایی و وضعیت سلامت حیوانات (از جمله ملاحظات مربوط به TSE/BSE در صورت کاربرد) مورد استفاده

سازمان غذا و دارو

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

			قرار می‌گیرد. این گواهی به‌عنوان بخشی از مستندات کیفی ماده اولیه نگهداری می‌شود و در صورت نیاز ارائه خواهد شد.
CMC	Chemistry, Manufacturing and Controls	شیمی، ساخت (یا تولید) و کنترل‌ها	CMC مجموعه‌ای از اطلاعات فنی و مستندات است که نشان می‌دهد یک ماده دارویی (Drug Substance / API) و محصول نهایی دارویی (Drug Product) چگونه طراحی و فرموله شده‌اند تولید می‌شوند، چگونه کنترل و آزمون می‌شوند و چگونه کیفیت، خلوص، قدرت اثر (potency) و یکنواختی آن‌ها در طول تولید و نگهداری تضمین می‌شود. دارو از نظر ترکیب شیمیایی یا بیولوژیکی چگونه تعریف شده است (Chemistry) فرایند تولید آن چگونه انجام می‌شود (Manufacturing) چه آزمون‌ها و کنترل‌های کیفی برای تضمین کیفیت، خلوص و قدرت اثر دارو انجام می‌شود (Controls)
CPE	Cytopathic Effect	تأثیر سیتوپاتیک	تأثیر سیتوپاتیک؛ به تغییرات ظاهری یا عملکردی است که در سلول‌های میزبان پس از عفونت با ویروس‌ها یا عوامل عفونی دیگر رخ می‌دهد. این تغییرات می‌توانند شامل انحراف در شکل، اندازه، ساختار، یا مرگ سلولی باشند و برای شناسایی و ارزیابی عفونت و بررسی در آزمایش‌های زیستی و بیولوژیکی مورد استفاده قرار می‌گیرند.
CS	Calf Serum	سرم گوساله	سرم گوساله؛ سرمی است که از خون گوساله‌های جوان (معمولاً کمتر از شش ماه سن) استخراج می‌شود و به دلیل داشتن مقادیر بالای فاکتورهای رشد، پروتئین‌ها و مواد مغذی سلولی، در محیط‌های کشت سلولی، تولید فرآورده‌های زیستی، و پژوهش‌های بیوتکنولوژی به‌طور گسترده استفاده می‌شود.
CTA	Clinical Trial Application	درخواست مجوز کارآزمایی بالینی	Clinical Trial Application (CTA) یکی از کلیدی‌ترین پرونده‌های فنی است که یک شرکت دارویی باید پیش از شروع مطالعه بالینی، برای نهادهای نظارتی ارسال کند. در واقع پرونده‌ای است که اسپانسر (Sponsor) به یک مرجع ذی‌صلاح ملی (National Competent Authority - NCA) و یک کمیته اخلاق (Ethics Committee) ارائه می‌دهد تا اجازه رسمی برای انجام یک کارآزمایی بالینی بر روی انسان را دریافت کند.

سازمان غذا و دارو

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

CTD	Common Technical Document	سند فنی مشترک/پرونده جامع دارویی	این سند، در واقع قالب استاندارد و بین‌المللی برای ارائه مدارک دارویی به نهادهای ناظر (مانند FDA در آمریکا، EMA در اروپا و غیره) برای دریافت مجوز بازاریابی (Marketing Authorisation) است.
DHS	Donor Horse Serum	سرم اسب اهداکننده	سرم گرفته شده از اسب‌های سالم که برای استفاده در کشت سلولی، تولید آنتی‌بادی، یا سایر کاربردهای تحقیقاتی و بیوتکنولوژیکی تهیه می‌شود.
EMA	European Medicine Agency	آژانس دارویی اروپا	این سازمان نهاد نظارتی دارو در اتحادیه اروپا است و مسئول ارزیابی، نظارت و پایش ایمنی داروها در کشورهای عضو اتحادیه اروپا می‌باشد.
EP	European Pharmacopeia	فارماکوپه اروپا	European Pharmacopoeia (Ph. Eur.) یک مرجع رسمی استانداردهای کیفیت دارویی در اروپا است که الزامات کیفی برای مواد مؤثره دارویی (API)، مواد کمکی (Excipients)، فرآورده‌های دارویی، مواد زیستی، و روش‌های تحلیلی را تعیین می‌کند.
E	Excipient	ماده جانبی دارویی	ماده‌ای که در فرمولاسیون دارو حضور دارد اما اثر درمانی مستقیم ندارد و برای کمک به پایداری، شکل‌دهی، جذب یا تحویل دارو استفاده می‌شود. کاربردهای رایج آن، افزایش پایداری دارو، بهبود انحلال یا جذب، تنظیم pH، ایجاد حجم یا شکل مناسب، (قرص، کپسول، محلول)، محافظت از مادی مؤثره و ... می‌باشد.
EU	Endotoxin Unit	واحد اندوتوکسین	Endotoxin Unit (EU) واحد استاندارد اندازه‌گیری مقدار اندوتوکسین‌های باکتری‌های گرم‌منفی است. این واحد نشان می‌دهد که یک نمونه تا چه حد قادر است پاسخ تب‌زایی (pyrogenic response) ایجاد کند. این واحد بر پایه حساسیت LAL assay (Limulus Amebocyte Lysate test) تعریف شده است.
FBS	Fetal Bovine Serum	سرم جنین گاوی	FBS یک مکمل بسیار رایج در محیط‌های کشت سلولی است که از خون جنین گاو به دست می‌آید و برای رشد و تکثیر سلول‌ها در شرایط آزمایشگاهی استفاده می‌شود.
GMP	Good Manufacturing Practice	اصول تولید خوب/اصول صحیح تولید	GMP مجموعه‌ای از مقررات و دستورالعمل‌ها است که تضمین می‌کند داروها، محصولات زیستی، تجهیزات پزشکی و برخی محصولات بهداشتی به‌طور یکنواخت و کنترل‌شده تولید و کنترل کیفیت شوند تا ایمنی، کیفیت و اثربخشی آن‌ها حفظ شود.
GI	Gamma Irradiation	پرتو دهی گاما	Gamma Irradiation فرایندی است که در آن از پرتوهای گاما (Gamma rays) برای کاهش یا غیرفعال‌سازی میکروارگانیسم‌ها مانند باکتری‌ها، قارچ‌ها و برخی ویروس‌ها در مواد بیولوژیک یا تجهیزات استفاده می‌شود. پرتو گاما معمولاً از منابع

سازمان غذا و دارو

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

			رادیواکتیو مانند Cobalt-60 (Co-60) تولید می‌شود. در برخی موارد به عنوان روش کاهش ریسک ویروسی و میکروبی در سرم‌های حیوانی استفاده می‌شود، اما جایگزین کامل تست‌های ایمنی نیست.
GLP	Good Laboratory Practices	اصول یا الزامات صحیح آزمایشگاهی	GLP مجموعه‌ای از الزامات مدیریتی و سازمانی است که تضمین می‌کند آزمایش‌هایی که برای ایمنی، سمیت، فارماکولوژی، پایداری، و سایر مطالعات غیرکلینیکی انجام می‌شوند قابل اعتماد، قابل تکرار و قابل ردیابی باشند؛ مطابق استانداردهای بین‌المللی انجام شوند؛ خروجی آن‌ها توسط رگولاتورها (OECD, EMA, FDA) پذیرفته شود.
GMP	Good Manufacturing Practices	اصول صحیح تولید	GMP مجموعه‌ای از استانداردها و الزامات کیفی است که تضمین می‌کند محصولات دارویی، بیولوژیک، واکسن‌ها و تجهیزات پزشکی به طور پیوسته با کیفیت، ایمنی و خلوص مناسب تولید و کنترل شوند. هدف اصلی GMP این است که از آلودگی، خطاهای تولید، و تغییرات ناخواسته در کیفیت محصول جلوگیری شود.
HI	Heat Inactivation	غیرفعال سازی حرارتی	فرآیندی است که در آن یک نمونه جدا شده یا سرم‌های بیولوژیک، معمولاً در دمای ۵۶ درجه سانتی‌گراد به مدت حدود ۳۰ دقیقه، گرم می‌شوند تا فعالیت‌های زیستی برخی اجزا مانند کمپلمان‌ها، ویروس‌ها، و میکروارگانیسم‌ها غیرفعال شوند. هدف از Heat Inactivation: تولید نمونه‌های بیولوژیک ایمن‌تر و کاهش ریسک آلودگی میکروبی و ویروسی، غیرفعال سازی کمپلمان‌های فعال که ممکن است تداخل در آزمایش‌های ایمونولوژیک یا کشت سلولی ایجاد کند، و کاهش فعالیت ویروس‌ها و عفونت‌های باکتریایی در نمونه قبل از استفاده‌های حساس می‌باشد.
HSA	Human Serum Albumin	آلبومین سرم انسانی	آلبومین سرم انسانی، پروتئین اصلی موجود در پلاسما/سرم انسان است و نقش‌های کلیدی در فیزیولوژی و همچنین در صنعت داروسازی و بیوتکنولوژی دارد. HSA به‌عنوان ماده کمکی (Ancillary Material / Raw Material) به کار می‌رود.
ICH	International Conference on Harmonization	کنفرانس بین‌المللی هماهنگ سازی الزامات فنی برای ثبت فرآورده‌های دارویی مورد مصرف انسانی	ICH یک نهاد بین‌المللی است که هدف آن هماهنگ سازی الزامات فنی و علمی برای ثبت داروها بین مناطق اصلی دارویی جهان (به‌ویژه اروپا، آمریکا و ژاپن) می‌باشد.
IFA	Immunofluorescent Antibody	آنتی‌بادی ایمونوفلورسانس / آزمون آنتی‌بادی فلورسنت	IFA یک روش ایمونولوژیک مبتنی بر فلورسانس است که برای شناسایی آنتی‌ژن‌ها یا آنتی‌بادی‌ها در نمونه‌های زیستی با استفاده از آنتی‌بادی‌های نشاندار شده با رنگ فلورسنت به کار می‌رود. در کنترل کیفی مواد بیولوژیک یا خطوط سلولی، آزمون

سازمان غذا و دارو

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

			Immunofluorescent Antibody test می‌تواند برای تشخیص آلودگی‌های ویروسی یا مایکوپلازما استفاده شود.
IFCS	Iron Fortified Calf Serum	سرم گوساله غنی‌شده با آهن	Iron Fortified Calf Serum نوعی سرم گوساله (Calf Serum) است که در مرحله فراوری (Processing) یا پس از آن، با ترکیبات آهن‌دار قابل دسترس زیستی غنی‌سازی می‌شود. هدف اصلی آن بهبود رشد سلولی در کشت‌هایی است که به آهن بیشتر نیاز دارند.
IND	Investigational New Drug	داروی جدید تحقیقاتی/ داروی جدید در حال بررسی	IND به یک دارو یا فرآورده زیستی اطلاق می‌شود که هنوز برای مصرف عمومی تأیید نشده است و به‌منظور انجام مطالعات بالینی در انسان، تحت مقررات FDA قرار گرفته است.
ISIA	International Serum Industry Association	انجمن بین‌المللی صنعت سرم	ISIA یک سازمان غیردولتی و غیرانتفاعی بین‌المللی است که نماینده و تنظیم‌گر حرفه‌ای شرکت‌های فعال در تولید، فراوری، توزیع و استفاده از سرم‌های حیوانی در حوزه‌های بیوتکنولوژی، داروسازی، کشت سلولی و تحقیقاتی محسوب می‌شود.
ISO	International Organization for Standardization	سازمان بین‌المللی استانداردسازی	ISO یک نهاد بین‌المللی مستقل و غیردولتی است که استانداردهای بین‌المللی را برای تضمین کیفیت، ایمنی، کارایی و سازگاری محصولات، خدمات و سیستم‌ها تدوین و منتشر می‌کند. در صنایع داروسازی، بیوتکنولوژی و کشت سلول، استانداردهای ISO اغلب در کنار الزامات GMP، GLP و ICH برای تضمین کیفیت و ایمنی استفاده می‌شوند.
LAL	Limulus amoebocyte lysate	لیزات آمیبوسیت خرچنگ نعل‌اسبی	Limulus Amebocyte Lysate یا LAL، یک محلول استخراج‌شده از آمیبوسیت‌ها (سلول‌های شبه‌ایمنی) موجود در خون خرچنگ نعل‌اسبی (Limulus polyphemus) است. این لیزات دارای فاکتورهای انعقادی زیستی بسیار حساس است که در حضور اندوتوکسین‌های باکتری‌های گرم منفی (LPS) فعال شده و واکنشی اندازه‌پذیر ایجاد می‌کنند. به همین دلیل، LAL استاندارد جهانی تشخیص و اندازه‌گیری اندوتوکسین در صنایع دارویی و بیولوژیک است.
MA	Marketing Authorization	مجوز بازاریابی/مجوز عرضه دارو در بازار	مجوز بازاریابی (Marketing Authorization) سند قانونی‌ای است که توسط یک نهاد نظارتی دارویی (مانند EMA یا یک National Competent Authority در کشورهای عضو اتحادیه اروپا) صادر می‌شود و اجازه می‌دهد که یک محصول دارویی در یک بازار مشخص عرضه، توزیع و تجاری‌سازی شود.
MCB	Master cell bank	بانک سلولی اصلی	بانک اصلی و مرجع سلولی، MCB مجموعه‌ای از ویال‌های سلولی کاملاً مشخص و یکنواخت است که از یک کلون یا منبع سلولی اولیه تهیه شده و در شرایط کنترل‌شده (معمولاً در نیتروژن مایع یا دمای بسیار پایین) نگهداری می‌شود تا در تولید فرآورده‌های زیستی استفاده شود.

سازمان غذا و دارو

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

RM	Raw Material	ماده اولیه	Raw Material (ماده اولیه) در حوزه کشت سلول، بیوتکنولوژی و تولید فرآورده‌های زیستی به موادی گفته می‌شود که در فرآیند تولید یک محصول دارویی یا زیستی استفاده می‌شوند و می‌توانند مستقیماً در ساخت ماده فعال (Active Substance) یا محصول نهایی نقش داشته باشند.
QC	Quality Control	کنترل کیفیت	Quality Control به مجموعه‌ای از آزمون‌ها، اندازه‌گیری‌ها و فعالیت‌های عملیاتی گفته می‌شود که برای بررسی و تأیید انطباق مواد اولیه، فرآورده‌ها و محصولات با مشخصات و استانداردهای تعیین‌شده انجام می‌گیرد. هدف QC این است که اطمینان حاصل شود محصول تولیدشده از نظر کیفیت، ایمنی و کارایی مطابق الزامات تعیین‌شده است.
QMS	Quality Management System	سیستم مدیریت کیفیت	Quality Management System مجموعه‌ای از ساختار سازمانی، سیاست‌ها، فرآیندها، روش‌های اجرایی و منابع است که یک سازمان برای برنامه‌ریزی، کنترل و بهبود کیفیت محصولات یا خدمات خود به کار می‌گیرد. هدف QMS این است که اطمینان حاصل شود محصولات یا خدمات به طور مداوم مطابق با الزامات کیفیت، مقررات رگولاتوری و نیازهای مشتری تولید یا ارائه می‌شوند. QMS چارچوب اصلی برای اجرای الزامات GMP، GLP و GCP است و تضمین می‌کند که تمام فعالیت‌ها از توسعه تا تولید و توزیع قابل ردیابی، کنترل‌شده و مستندسازی شده هستند.
SM	Starting Material	ماده آغازین	ماده‌ای که تولید Active Substance از آن آغاز می‌شود و در واقع، این ماده نقطه شروع ساخت ماده فعال دارویی (API) است.
SRM	Specified Risk Material	بافت‌های با خطر مشخص	به بافت‌ها یا اندام‌های خاصی از حیوانات (به‌ویژه گاو) گفته می‌شود که احتمال دارد عامل بیماری‌های پریونی مانند Bovine Spongiform Encephalopathy (BSE) را در خود داشته باشند. به همین دلیل این بافت‌ها در بسیاری از مقررات به‌طور سخت‌گیرانه از زنجیره غذایی و تولید محصولات دارویی و بیولوژیک حذف می‌شوند.
TSEs	Transmissible spongiform encephalopathies	انسفالوپاتی‌های اسفنجی شکل قابل انتقال	TSEs دسته‌ای از بیماری‌های نورودژنراتیو (تخریب‌کننده بافت عصبی) هستند که با مرگ پیشرونده سلول‌های عصبی در مغز و نخاع مشخص می‌شوند. ویژگی اصلی این بیماری‌ها، ایجاد تغییرات اسفنجی شکل (حفره‌های خالی) در بافت مغز است که ناشی از تجمع پروتئین‌های غیرعادی به نام پریون (Prion) است. این بیماری‌ها قابل انتقال بوده و می‌توانند در گونه‌های مختلف حیوانات و انسان رخ دهند.
USP	United States Pharmacopeia	فارماکوپه ایالات متحده آمریکا	USP یک مرجع رسمی استانداردهای کیفیت برای داروها، مواد دارویی، مکمل‌های غذایی و برخی محصولات زیستی در ایالات متحده است. USP استانداردهایی را تعیین

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

			می‌کند که کیفیت، خلوص، قدرت اثر (potency) و هویت مواد دارویی را مشخص می‌کنند. این استانداردها برای اطمینان از ایمنی و کیفیت داروها استفاده می‌شوند.
WCB	Working cell bank	بانک سلولی پای کار	مجموعه‌ای از ویال‌های سلولی آماده استفاده است که مستقیماً از Master Cell Bank (MCB) تهیه شده‌اند و برای راه‌اندازی کشت سلولی در تولید روتین به کار می‌روند.
WHO	World Health Organization	سازمان بهداشت جهانی	این سازمان یکی از آژانس‌های تخصصی سازمان ملل متحد است که وظیفه مدیریت و هماهنگی تلاش‌های بهداشت عمومی در سطح بین‌المللی را بر عهده دارد. به خصوص در مورد GMP، راهنمایی‌های WHO (که گاهی با نام WHO GMP شناخته می‌شوند) بسیار مورد توجه قرار می‌گیرند.

۲- اصطلاحات (Terms)

۲-۱- فارماکوپه ایالات متحده آمریکا (United States Pharmacopeia; USP)

USP یک سازمان علمی غیرانتفاعی مستقل در ایالات متحده است که استانداردهای رسمی برای کیفیت، ایمنی، خلوص و قدرت (Potency) داروها، مواد دارویی، مکمل‌های غذایی و برخی مواد زیستی را تدوین می‌کند. استانداردهای USP در قالب کتاب United States Pharmacopeia–National Formulary (USP–NF) منتشر می‌شوند. USP استانداردهایی ارائه می‌دهد که برای مواردی از قبیل (۱) آزمون‌های کنترل کیفیت (Quality Control)، (۲) تعیین مشخصات مواد اولیه (Specifications)، (۳) روش‌های آنالیتیکال (Analytical Methods)، (۴) تعیین حدود مجاز ناخالصی‌ها، (۵) استانداردهای Sterility و Endotoxin، و (۶) استانداردهای مواد مرجع (USP Reference Standards)، استفاده می‌شود. اجزای اصلی شامل (۱) USP–NF، مشتمل بر استانداردهای مربوط به داروها، مواد فعال دارویی (API)، محصولات بیولوژیک، و فرآورده‌های دارویی، و (۲) فارماکوپه ملی (بخش ملی فارماکوپه آمریکا)^۱، شامل استانداردهای رسمی مربوط به مواد جانبی دارویی (Excipients)، افزودنی‌ها، مواد غیرفعال و برخی مواد کمکی مورد استفاده در فرمولاسیون داروها است. نمونه فصل‌های مهم USP و برخی فصل‌های عمومی که در صنعت بیوفارما بسیار استفاده می‌شوند عبارتند از:

- USP <71> Sterility Tests
- USP <85> Bacterial Endotoxins Test (LAL)
- USP <1043> Ancillary Materials for Cell, Gene, and Tissue-Engineered Products
- USP <788> Particulate Matter in Injections
- USP <1223> Validation of Alternative Microbiological Methods

¹ National Formulary (NF)

سازمان غذا و دارو

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

در آمریکا، استانداردهای USP توسط FDA به رسمیت شناخته می‌شوند. اگر یک دارو در USP Monograph تعریف شده باشد، محصول باید با آن استانداردها مطابقت قانونی (Compendial compliance) داشته باشد. در حوزه در داروهای بیولوژیک، داروهای درمانی پیشرفته، داروهای بیوتکنولوژیک و کشت سلول، USP، استانداردهایی برای موارد از قبیل Cell and Gene Therapy Materials، Serum and biological reagents، Sterility testing، Endotoxin testing، Ancillary و materials را فراهم می‌کنند. بنابراین، USP یکی از مهم‌ترین مرجع‌های استانداردهای کیفیت دارو و مواد دارویی در جهان است و در کنار فارماکوپه‌های دیگر (مانند European Pharmacopoeia (Ph. Eur.))، نقش کلیدی در کنترل کیفیت و انطباق رگولاتوری محصولات دارویی و بیولوژیک دارد.

۲-۲- آیین‌نامه فدرال ایالات متحده (Code of Federal Regulations; CFR)

CFR یا مجموعه قوانین و مقررات فدرال آمریکا، مجموعه‌ای رسمی از مقرراتی است که توسط سازمان‌ها و نهادهای دولتی ایالات متحده (از جمله FDA) صادر شده و جنبه الزام‌آور قانونی دارد. این مقررات توسط دفتر ثبت فدرال (Federal Register) منتشر و به‌صورت دوره‌ای به‌روزرسانی می‌شوند. CFR به بخش‌هایی (Titles) تقسیم شده است و هر بخش مربوط به حوزه خاصی از مقررات فدرال است. به عنوان مثال، بخش (Title) شماره ۲۱ (Title 21)، حوزه مقررات غذا و دارو (Food and Drugs) بوده که نهاد مسوول آن، سازمان غذا و داروی ایالات متحده آمریکا^۱ یا FDA است؛ و یا بخش ۴۲ (Title 42)، مربوط به مقررات بهداشت عمومی (Public Health) است که نهاد مسوول آن، وزارت بهداشت و خدمات انسانی ایالات متحده (HHS)^۲ است.

Title 21 CFR یا 21 CFR، مهم‌ترین بخش برای صنایع دارویی است که مقررات مربوط به غذاها، داروها، بیولوژیک‌ها و تجهیزات پزشکی را دربرمی‌گیرد. در همین راستا، برای صنایع دارویی و بیوتکنولوژی، بندهای (بخش‌های فرعی، Part) زیر بسیار مهم و حائز اهمیت هستند که عبارتند از:

توضیح	عنوان	بخش فرعی (Part)
اصول کلی تولید دارو	GMP – General	21 CFR Part 210
الزامات تولید داروهای نهایی	GMP for Finished Pharmaceuticals	21 CFR Part 211
محصولات بیولوژیکی	Biologics	21 CFR Part 600–680
مطالعات غیر کلینیکی (پیش بالینی)	GLP – Good Laboratory Practice	21 CFR Part 58

^۱ Food and Drug Administration (FDA)

^۲ Department of Health and Human Services

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

21 CFR Part 312	Investigational New Drug (IND)	مقررات داروهای تحقیقاتی
21 CFR Part 820	Quality System Regulation (QSR)	سیستم کیفیت تجهیزات پزشکی

بخش‌های ۶۰۰ تا ۶۸۰ از عنوان ۲۱ مقررات فدرال آمریکا (CFR) مربوط به محصولات بیولوژیک (Biological Products) می‌باشد. محصولات بیولوژیک شامل واکسن‌ها (Vaccines)، فرآورده‌های خونی و پلاسما، آنتی‌بادی‌های مونوکلونال، محصولات سلولی و ژن‌درمانی، سرم‌های درمانی، توکسوئیدها، و آلرژن‌ها هستند. در اصل 21 CFR Parts 600–680، مجموعه‌ای از مقررات FDA است که الزامات قانونی برای تولید، کنترل کیفیت، مجوز، برچسب‌گذاری، آزمایش و توزیع محصولات بیولوژیک را تعیین می‌کند. این مقررات علاوه بر GMP عمومی (21 CFR 210/211)، الزامات خاص برای محصولات بیولوژیک را مشخص می‌کنند. از مهمترین مهم‌ترین بخش‌های ذیل مقررات 21 CFR Part 600–680، میتوان به مواردی از قبیل زیر اشاره کرد:

- ۱- مقررات عمومی محصولات بیولوژیک، تعاریف، گزارش‌دهی و الزامات کلی:
21 CFR Part 600 – Biological Products: General
- ۲- الزامات دریافت مجوز بیولوژیک برای عرضه محصول در بازار آمریکا:
21 CFR Part 601 – Biologics License Application (BLA)
- ۳- استانداردهای عمومی آزمون‌های کیفیت (مانند Sterility, Purity, Safety, و Potency):
21 CFR Part 610 – General Biological Product Standards
- ۴- مقررات مربوط به جمع‌آوری و پردازش خون و فرآورده‌های خونی:
21 CFR Part 630 – Blood and Blood Components
- ۵- استانداردهای اختصاصی برای محصولات خاص خونی.
21 CFR Part 640 – Additional Standards for Blood Products

در تأکید بر اهمیت CFR در رگولاتوری، این که CFR، چارچوب قانونی الزامات FDA را تعیین می‌کند، پایه‌ی ممیزی‌های GMP/GLP/GCP در آمریکا است و تمامی تولیدکنندگان دارو، بیولوژیک یا تجهیزات پزشکی که می‌خواهند در بازار آمریکا فعالیت کنند، باید با Title 21 CFR مطابقت داشته باشند. در همین راستا ذکر این نکته ضروری است که CFR الزامات قانونی (Regulatory) را تعریف می‌کند ولی USP، ISO، ICH استانداردهای فنی یا علمی هستند که روش‌های عملی برای تطابق با مقررات CFR را توضیح می‌دهند. به عبارتی، CFR، قانون الزام‌آور است ولی USP/ISO/ICH، استاندارد یا راهنمای اجرا برای رعایت قانون است. در صنایع دارویی، به‌ویژه زیرمجموعه 21 CFR، ستون اصلی انطباق با الزامات FDA محسوب می‌شود.

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

۳-۲- فرآورده‌های خونی (Blood product):

هرگونه فرآورده درمانی که از خون یا پلاسمای انسانی حاصل شده و از طریق فرایندهای تولیدی مبتنی بر تجمیع (Pooling) چندین واحد پلاسما تولید می‌گردد، در این دسته‌بندی قرار می‌گیرد. فرآورده‌های درمانی مشتق از پلاسما و آنالوگ‌های نوترکیب (Recombinant Analogs) آن‌ها، در میان داروها و محصولات بیولوژیک، از جایگاه ویژه‌ای برخوردارند. فرآیند تولید این فرآورده‌ها با ماده اولیه زیستی، یعنی پلاسمای انسانی، آغاز می‌شود. به دلیل ماهیت ذاتی زیستی این فرآورده‌ها و همچنین روش‌های بیولوژیکی که برای آزمون آن‌ها به کار می‌رود، تغییرپذیری ذاتی در آن‌ها وجود دارد. لذا، این محصولات تحت ارزیابی جامع از جنبه‌های کیفیت، اثربخشی و ایمنی قرار می‌گیرند.

۴-۲- محصولات زیست‌فناوری (Biotechnology Product) / فرآورده‌های حاصل از فناوری DNA نوترکیب)

(Products of recombinant technology)

این محصولات از طریق اصلاح ژنتیکی تولید می‌شوند؛ فرایندی که در آن DNA کدکننده محصول مورد نظر، معمولاً به وسیله یک پلاسمید یا ناقل ویروسی، به درون یک میکروارگانیسم یا رده سلولی مناسب وارد می‌شود. در این سلول میزبان، DNA واردشده بیان شده و به پروتئین ترجمه می‌گردد. سپس محصول مورد نظر از طریق فرایندهای استخراج و خالص‌سازی بازیابی می‌شود.

۵-۲- فرآورده زیست‌دارویی (Biopharmaceutical)

اصطلاحی که در دهه ۱۹۸۰ برای توصیف پروتئین‌هایی ابداع شد که با استفاده از فناوری DNA نوترکیب تولید می‌شوند؛ این فناوری شامل تکنولوژی هیبریدوما نیز می‌گردد که برای تولید آنتی‌بادی‌های مونوکلونال (mAbs) به کار می‌رود. در اصل Biopharmaceutical به داروهایی گفته می‌شود که منشأ زیستی دارند یا با استفاده از فناوری‌های زیستی (به‌ویژه فناوری DNA نوترکیب، کشت سلولی یا مهندسی ژنتیک) تولید می‌شوند؛ مانند؛ آنتی‌بادی‌های مونوکلونال واکسن‌ها هورمون‌های نوترکیب (مثل انسولین) فاکتورهای انعقادی، و محصولاتی دارویی درمانی پیشرفته سلول، بافت، و ژن.

۶-۲- فرآورده زیستی (Biological Product)

فرآورده زیستی؛ به محصولاتی گفته می‌شود که از منابع زنده (مانند سلول‌ها، بافت‌ها یا میکروارگانیسم‌ها) تولید شده یا از آن‌ها مشتق می‌شوند و معمولاً برای اهداف درمانی، تشخیصی یا پیشگیری در پزشکی به کار می‌روند. در اصل، محصولی است که ماده فعال آن توسط یک موجود زنده (مانند گیاهان، انسان‌ها، حیوانات یا میکروارگانیسم‌ها) ساخته شده یا از آن‌ها مشتق می‌گردد. این

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

محصولات ممکن است از طریق روش‌های بیوتکنولوژی و سایر فناوری‌های پیشرفته تولید شوند و عملکرد یا ساختار مواد زیستی طبیعی موجود در بدن، نظیر هورمون‌ها، آنزیم‌ها یا آنتی‌بادی‌ها را تقلید می‌کنند.

۷-۲- فرآورده‌های سلول درمانی و ژن درمانی (Cell Gene Therapy Products (CGTPs):

به محصولاتی گفته می‌شود که برای درمان یا پیشگیری از بیماری‌ها از سلول‌های زنده، مواد ژنتیکی (مانند DNA یا RNA) یا ترکیبی از هر دو استفاده می‌کنند و معمولاً با هدف اصلاح، جایگزینی یا تنظیم عملکرد ژن‌ها و سلول‌ها به کار می‌روند. این فرآورده‌ها به عنوان فرآورده‌های زیستی (Biologic products) مقررات‌گذاری می‌شوند. برخلاف محصولات بیوتکنولوژی که عمدتاً شامل پروتئین‌های خالص‌شده سلولی هستند، محصولات CGTP حاوی سلول‌های زنده و عملکردی‌اند. بنابراین، CGTP تحت یک چارچوب مقرراتی جداگانه تنظیم می‌شود.

۸-۲- ماده زیستی (Biological substance):

ماده زیستی؛ به ماده‌ای گفته می‌شود که منشأ زیستی داشته و از موجودات زنده (مانند انسان، حیوان، گیاه یا میکروارگانیسم‌ها) به دست می‌آید یا توسط آن‌ها تولید می‌شود و معمولاً دارای فعالیت زیستی مشخص است. در اصل، ماده‌ای که توسط یک منبع زیستی تولید شده یا از آن استخراج می‌شود و برای شناسایی دقیق و تعیین کیفیت آن، ترکیبی از آزمون‌های فیزیوشیمیایی و زیستی، همراه با ارزیابی فرایند تولید و کنترل‌های مربوط به آن، مورد نیاز است.

۹-۲- محصولات/فرآورده‌های جانبی حیوانی (Animal by-products):

محصول/فرآورده جانبی حیوانی، به تمام لاشه حیوانات یا بخش‌هایی از بدن آن‌ها، محصولات با منشأ حیوانی، یا سایر موادی که از حیوانات به دست می‌آیند و برای مصرف انسانی در نظر گرفته نشده‌اند اطلاق می‌شود؛ این موارد شامل اووسیت‌ها (تخمک‌ها)، جنین‌ها و مایع منی نیز می‌باشد. محصولات مشتق‌شده حیوانی، به هر گونه موادی اطلاق می‌شود که از طریق پردازش، تغییر شکل، یا هر نوع عملیات تکمیلی دیگر روی مواد جانبی حیوانی تولید شده باشند.

Regulation (EC) No 1069/2009 Article 3(1)، یکی از تعاریف پایه در مقررات اتحادیه اروپا درباره مواد جانبی حیوانی (Animal By-Products – ABP) است. این ماده مشخص می‌کند چه موادی در این دسته قرار می‌گیرند و بنابراین مشمول الزامات بهداشتی و رگولاتوری این قانون می‌شوند. طبق ماده 3(1)، Animal by-products به موادی گفته می‌شود که از کل بدن حیوان یا بخشی از

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

بدن آن به‌دست آمده‌اند، یا محصولاتی با منشأ حیوانی هستند، و یا مواد دیگری هستند که از حیوانات حاصل شده و برای مصرف انسان در نظر گرفته نشده‌اند. هدف از این تعریف این است که اتحادیه اروپا بتواند مدیریت بهداشتی و ایمنی مواد حیوانی غیرخوراکی را کنترل کند تا خطراتی مانند انتقال بیماری‌های دامی، آلودگی‌های میکروبی، و بیماری‌های پریونی مانند BSE/TSE، کنترل شود. این تعریف پایه‌ای تعیین می‌کند که بسیاری از مواد مورد استفاده در صنایع علمی و دارویی از جمله BSA، FBS، کلاژن و ژلاتین، آنزیم‌های مشتق از حیوانات مانند تریپسین، و سایر مواد مورد استفاده در کشت سلولی، در چه چارچوبی قرار می‌گیرند. اگر این مواد برای مصرف انسانی به‌عنوان غذا نباشند، در اتحادیه اروپا Animal By-Product محسوب می‌شوند و باید مطابق این مقررات، قابل ردیابی (Traceability) باشند، کنترل دامپزشکی داشته باشند، گواهی بهداشتی و منبع داشته، و طبق دسته‌بندی‌های ریسک (Category 1, 2, 3) مدیریت شوند.

۱۰-۲- انجمن بین‌المللی صنعت سرم (انجمن/سازمان مرتبط با تولید و تأمین سرم‌های حیوانی برای کاربردهای آزمایشگاهی/صنعت بیوتکنولوژی) (ISIA)^۱

ISIA یک سازمان غیردولتی و غیرانتفاعی بین‌المللی است که نماینده و تنظیم‌گر حرفه‌ای شرکت‌های فعال در تولید، فرآوری، توزیع و استفاده از سرم‌های حیوانی در حوزه‌های بیوتکنولوژی، داروسازی، کشت سلولی و تحقیقاتی محسوب می‌شود. این انجمن نقش خود را به صورت استانداردساز صنعتی^۲ ایفا می‌کند، نه قانون‌گذار رگولاتوری دولتی. یعنی ISIA استانداردهای داوطلبانه^۳ و بهترین ممارست‌ها^۴ و اقدامات در این حوزه را منتشر می‌کند که شرکت‌ها با رعایت آن‌ها می‌توانند کیفیت، ایمنی و قابلیت ردیابی محصولات خود را اثبات کنند. مأموریت اصلی ISIA، ارتقاء کیفیت، شفافیت و ردیابی جهانی سرم‌های حیوانی است. بویژه برای محصولاتی مثل Fetal Bovine Serum (FBS)، Calf Serum، Horse Serum و مشتقات آن‌ها که در کشت سلول‌ها و تولیدات بیولوژیک به کار می‌روند. ISIA سه هدف کلیدی را دنبال می‌کند:

Traceability (ردیابی منشأ): ایجاد استانداردهای دقیق برای ردیابی کامل محصول از حیوان منبع تا بطری (bottle) نهایی. این امر برای مدیریت خطرات TSE/BSE، آلودگی‌های ویروسی و سوءاستفاده‌های بازار حیاتی است.

Quality & Consistency (کیفیت و یکنواختی): تعریف معیارهای تضمین کیفیت (Quality Assurance) شامل ویژگی‌های فیزیکی، بیوشیمیایی و عملکردی سرم.

¹ International Serum Industry Association

² Industry Standard Body

³ Voluntary Standards

⁴ Best Practices



سازمان غذا و دارو

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

Education & Ethics (آموزش و اخلاق صنایع): ترویج رفتار اخلاقی در زنجیره تأمین (Supply Chain Integrity) و آموزش تولیدکنندگان و مصرف‌کنندگان درباره منبع، جداسازی و تصفیه صحیح سرم‌ها.

ISIA فعالیت‌های خود را در چند محور انجام می‌دهد که عبارتند از:

استانداردسازی (Standardization): تدوین استانداردهای صنعتی برای جمع‌آوری، فرآوری و بسته‌بندی سرم

ارزیابی و اعطاء گواهی (Audit & Certification): ارزیابی شرکت‌ها برای اعطای گواهی ISIA Traceability Certification

ارتباط و هماهنگ نهاد های نظارتی و رگولاتوری (Regulatory Liaison): تعامل با سازمان‌های نظارتی مانند EMA، FDA، WHO، و USDA

آموزش و ترویج (Education): انتشار مقالات، دوره‌ها و دستورالعمل‌های آموزشی برای کاربران سرم در محیط کشت سلول

گواهی (ISIA Traceability Certification) ISIA:

این گواهی نشان می‌دهد که شرکت تولیدکننده یا توزیع‌کننده می‌تواند مسیر سرم را از مسیر استاندارد متواتر شامل منشأ حیوان، کشور منبع، جمع‌آوری، پالایش، فرآوری، بسته‌بندی، و فروش نهایی، به صورت مستند و قابل پیگیری (Auditable) ثبت و ارائه کند. وجود این گواهی در Certificate of Analysis (CoA) یا Product Data Sheet یک امتیاز کیفی و ایمنی مهم است و در ارزیابی‌های رگولاتوری (خصوصاً برای داروهای بیولوژیک و سل‌تراپی‌ها) مورد توجه ویژه قرار می‌گیرد.

ISIA به طور رسمی بخشی از چارچوب‌های قانونی FDA یا EMA نیست، اما توصیه‌ها و استانداردهای آن در بسیاری از ارزیابی‌های GMP، احراز صلاحیت زنجیره تأمین^۱ و ارزیابی ایمنی زیستی^۲ مورد استناد قرار می‌گیرند. به عبارتی، رعایت استانداردهای ISIA، نشانگر سطح بالای انطباق غیررسمی (Industrial Compliance) با الزامات ایمنی بیولوژیک جهانی است.

۱۱-۲- شماره تأیید (Approval number)

^۱ Supply Chain Qualification

یعنی شرکت قبل از استفاده از یک ماده/محصول یا برای کاهش ریسک کیفیت و ایمنی، باید نشان دهد که کل مسیر تأمین (تولیدکننده، فرآورنده، انبارش، حمل، اسناد مانند CoA/تست‌ها، ردیابی و...) توانایی تولید ارائه مطابق با الزامات را دارد.

^۲ Biological Safety Assessment

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

شماره تأیید (Approval number) به این معناست که یک مؤسسه یا واحد فرآوری، پس از آنکه توسط مرجع صلاحیت‌دار مورد بازرسی قرار گرفته و/یا برای انجام عملیات مرتبط با محصولات جانبی حیوانی یا محصولات مشتق‌شده برای اهداف مشخص، مناسب تشخیص داده شده است، طبق الزامات مقرر در ماده ۲۴ مقرر (EC) شماره ۱۰۶۹/۲۰۰۹، رسماً مورد تأیید قرار می‌گیرد. ماده ۲۴ مقرر (EC) No 1069/2009^۱ به الزام تأیید رسمی برخی تأسیسات توسط مرجع ذی‌صلاح قبل از فعالیت با Animal By-Products یا Derived Products اشاره دارد. پس از این تأیید، یک Approval Number به آن تأسیسات اختصاص داده می‌شود که برای شناسایی، ردیابی (traceability) و نظارت رگولاتوری استفاده می‌شود.

۱۲-۲- تأیید تأسیسات یا واحدهای صنعتی (Approval of establishments or plants)

تأسیسات یا واحدهای صنعتی، به واحدها یا تأسیساتی اطلاق می‌شود که از سوی مرجع صلاحیت‌دار مورد تأیید رسمی قرار گرفته‌اند. این تأسیسات یا واحدها فرآورده‌های مختلفی را انجام می‌دهند که در مقرر (EC) شماره ۱۰۶۹/۲۰۰۹، ماده ۲۴ بند ۱ (i) تعریف شده است و از جمله شامل ذخیره‌سازی محصولات جانبی حیوانی و/یا محصولات مشتق‌شده برای مقاصد مشخص می‌باشد.

۱۳-۲- آرتیوداکتیل (Artiodactyla)

آرتیوداکتیل (Artiodactyla) به یک راسته از پستانداران اطلاق می‌شود که شامل سم‌داران زوج‌سم (even-toed ungulates) است. راسته Artiodactyla شامل حیواناتی است که وزن بدن آن‌ها عمدتاً روی دو انگشت میانی پا قرار می‌گیرد. نمونه‌های شناخته‌شده آن عبارت‌اند از گاو، گوسفند، بز، گوزن، شتر، خوک. در متون دامپزشکی و رگولاتوری، این اصطلاح معمولاً برای طبقه‌بندی حیوانات منبع مواد بیولوژیک (مانند سرم یا بافت) استفاده می‌شود.

۱۴-۲- بچ/سری (Batch)

بچ (Batch) به یک واحد تولیدی اطلاق می‌شود که در یک تأسیسات واحد و تحت پارامترهای تولید یکنواخت (مانند منشأ مواد اولیه) تولید شده است؛ یا به چندین واحد از این نوع گفته می‌شود که به‌صورت پیوسته در یک تأسیسات، تولید شده و به‌عنوان یک واحد برای حمل یا ارسال با یکدیگر نگهداری و تجمع می‌شوند. در صنعت داروسازی و بیوتکنولوژی، Batch معمولاً به مجموعه‌ای از محصول اشاره دارد که، در یک چرخه یا مرحله تولید مشخص تولید شده است، و دارای مشخصات کیفی یکنواخت باشد، و تحت یک شماره بچ (Batch Number / Lot Number) برای ردیابی (traceability) و کنترل کیفیت ثبت می‌شود. در اصل هر سری ساخت

^۱ Regulation (EC) No 1069/2009 Article 24

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

یا بچ، به چندین واحد از این نوع گفته می‌شود که در ترتیب پیوسته در یک واحد تولیدی تولید شده و سپس به صورت تجمیع شده و یکجا، به عنوان یک واحد حمل (Shipping Unit)، ذخیره‌سازی و نگهداری می‌گردند.

بر طبق Regulation (EU) No 142/2011 Annex I Point 50 page 37، این مقرر یک قانون اجرایی (Implementing Regulation) اتحادیه اروپا است که برای اجرای مفاد Regulation (EC) No 1069/2009 وضع شده است. هدف کلی Regulation 142/2011، تعیین الزامات فنی، عملیاتی و بهداشتی برای مدیریت، حمل و نقل، پردازش و دفع؛ است. Annex I این مقرر، مجموعه‌ای از تعاریف رسمی و حقوقی است که برای تفسیر صحیح کل مقرر ۲۰۱۱/۱۴۲ و همچنین قانون مادر آن (Regulation 1069/2009) استفاده می‌شود. Point 50 در Annex I (صفحه ۳۷) شامل تعریف Batch است. از منظر رگولاتوری، اتحادیه اروپا می‌خواهد تعیین کند که "یک Batch چیست" تا در تمام زنجیره تولید و کنترل کیفیت، یکسان‌سازی و یکنواختی برقرار شود. این تعریف به طور خاص برای موادی مثل Animal By-Products (مثلاً خون، سرم، چربی، پروتئین‌ها) و Derived Products (مانند تریپسین، ژلاتین، پپتیدها، کلاژن، سرم تغییر یافته و...) استفاده می‌شود و هدف اصلی آن ایجاد Traceability (قابلیت ردیابی) و Uniformity (یکنواختی) است. طبق این مقرر (Regulation)، تولیدکنندگان سرم و محصولات مشتق شده از حیوان باید اثبات کنند که هر Batch تحت پارامترهای یکنواخت تولید شده است و منشأ مواد اولیه آن یکسان است، و خروجی قابل ردیابی است (برای TSE/BSE, Viral Safety). همچنین برای واردات و صادرات، گمرک و مقامات بهداشتی باید بتوانند یک Batch را تا منشأ حیوان ردگیری کنند. طبق اصول GMP، هر Batch اساس کنترل کیفیت، عدم انطباق (Deviation)، و فرآیند Release است. برای ISIA Traceability در صنعت سرم، ردیابی Batch تا سطح مزرعه (Farm) یک الزام کلیدی است.

به عبارتی، Regulation (EU) No 142/2011 Annex I Point 50، تعیین می‌کند که Batch دقیقاً چه چیزی است و چگونه باید تعریف شود تا امکان ردیابی آن ممکن بوده و کنترل کیفیت یکپارچه داشته باشد، و تجارت و حمل بین‌المللی مواد یا محصولات با منشأ حیوانی (ABP)^۱ و فرآورده‌های مشتق از حیوان (DP)^۲ ایمن باشد، و استانداردها در کل اروپا یکسان باشند. (ABP = ماده خام با منشأ حیوانی که برای مصرف انسانی نمی‌باشد، مانند خون حیوانات، سرم حیوانی (FBS)، استخوان، چربی، پوست، بافتها، لاشه حیوانات، ضایعات کشتارگاهی؛ DP = محصولی که از پردازش ABP به دست آمده است، مانند ژلاتین، کلاژن، پپتون‌ها^۳، پروتئین‌های هیدرولیز شده، سرم‌های فرآوری شده، تریپسین، برخی مواد مورد استفاده در محیط کشت سلولی).

^۱ Animal By-Products

^{۲۲} Derived Products

^{۳۳} Peptones

پپتون‌ها مخلوطی از پپتیدها، اسیدهای آمینه آزاد، و بخش‌هایی از پروتئین هستند که از هیدرولیز جزئی منابع پروتئینی به دست می‌آیند.

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

۱۵-۲- تفاوت Batch (بیچ/سری) و Lot (لات):

Batch، یک اصطلاح فرآیندی و تولیدی (Process-based term) است و به کل مقدار محصولی گفته می‌شود که در یک چرخه تولید یکنواخت و تحت پارامترهای ثابت و یکسان تولید شده باشد. تمرکز Batch بر فرآیند تولید، تجهیزات و واحد تولیدی، پارامترهای فرآیندی (دمای واکتور، pH، مواد اولیه یکنواخت و...)، و یکنواختی کیفی و فرآیندی، می‌باشد. به عنوان مثال، به مقدار کل ۱۲۰ لیتر محیط کشت تولیدشده در یک بیوراکتور با یک Charge مواد اولیه (Charge، مقدار مشخصی از یک ماده اولیه که در یک مرحله از فرایند تولید به سیستم یا تجهیز (مثل مخزن، راکتور یا بیورآکتور) اضافه می‌شود، گفته می‌شود)، یک Batch گفته می‌شود.

Lot (لات)، اصطلاح مرتبط با بسته‌بندی، توزیع، و ردیابی نهایی (Distribution-based term) است. Lot معمولاً یک تقسیم عملیاتی یا بسته‌بندی‌شده از یک Batch است که برای ردیابی (Traceability) و توزیع شماره‌گذاری می‌شود. تمرکز Lot بر مواردی از قبیل بسته‌بندی، توزیع، کنترل GMP در زنجیره تأمین، و ردیابی در بازار (Recall، Pharmacovigilance)، است. اگر یک Batch بزرگ محیط کشت تولید شود و سپس در ۵۰۰ ظرف ۵۰۰ میلی‌لیتری بسته‌بندی شود، ممکن است هر بخش یک Lot مجزا بگیرد، یا همه یک Lot باشند (بسته به سیاست شرکت). به عبارتی، هر Batch ممکن است شامل یک یا چند Lot باشد و در اصل Lot کوچک‌ترین واحد قابل ردیابی در بازار است. در عین حال، Batch کوچک‌ترین واحد قابل ردیابی در تولید است. در خصوص محصولات بیولوژیک و ATMPs، در بسیاری از موارد (مثلاً سل‌تراپی)، Batch برابر با Lot در نظر گرفته شده و به عنوان یک محصول برای یک بیمار قلمداد می‌شود، چون تولید برای هر بیمار منحصر به فرد است.

۱۶-۲- آلبومین سرم گاوی^۱ (BSA)

آلبومین سرم گاوی (BSA)، که با نام Cohn Fraction V نیز شناخته می‌شود، پروتئینی است که از سرم گاوی و از طریق تنظیم غلظت حلال‌ها، pH، سطح نمک‌ها و دما تولید می‌گردد. این ماده کاربردهای بیوشیمیایی فراوانی دارد.

۱۷-۲- سرم گاوی (Bovine Serum)

انواع سرم گاوی (bovine serum – other types) می‌توانند به صورت نیمه‌فرآوری‌شده^۲، شفاف‌شده (clarified) یا استریل - فیلتر شده (sterile filtered)، ارائه شوند. همچنین ممکن است این سرم‌ها برای مناسب بودن در یک کاربرد خاص، غربالگری یا ارزیابی

^۱ Bovine Serum Albumin

^۲ Semi-processed

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

شده باشند (که به آن Pre-qualified یا screened گفته می‌شود)، و یا اینکه تحت اصلاح^۱، تیمار^۲، تقویت^۳ یا تغییرات^۴ خاصی قرار گرفته باشند (که به آن Specialty serum گفته می‌شود).

۱-۱۷-۲- سرم گوساله تازه متولد شده گاوی (Neo-Natal Bovine Calf Serum – NNBCS): به عنوان بخش مایع خون لخته شده که از گوساله‌های تازه متولد شده‌ای که هنوز از مادر خود شیر نخورده‌اند به دست می‌آید، تعریف می‌شود. این سرم در کشتارگاه‌هایی که توسط مرجع صلاحیت‌دار کشور مبدأ، بازرسی و تأیید شده‌اند جمع‌آوری می‌شود. در این محصول هیچ‌گونه حذف یا افزودنی (از جمله مواد نگهدارنده^۵) مجاز نیست. در واقع NNBCS نوعی سرم گاوی اولیه است که از گوساله‌های تازه متولد شده قبل از اولین تغذیه با آغوز (colostrum) اخذ می‌گردد. به همین دلیل، سطح ایمونوگلوبولین‌ها (IgG) در آن بسیار پایین بوده. ترکیب آن به سرم جنینی (FBS) نزدیک‌تر از سرم گاو بالغ است. دلیل اینکه گوساله‌ها می‌بایست "شیر نخورده" باشد، این است که اولین شیر مادر (Colostrum) دارای مقدار بسیار زیادی از آنتی‌بادی‌ها (IgG, IgM) و پروتئین‌های ایمنی است. بنابراین، اگر گوساله آغوز بخورد، ترکیب سرم تغییر کرده و سطوح ایمونوگلوبولین‌ها در آن بالا می‌روند که در نتیجه برای بسیاری از کاربردهای کشت سلولی مناسب نخواهند بود.

۲-۱۷-۲- سرم گوساله نوزاد گاوی (Newborn Bovine Calf Serum – NBCS): به عنوان بخش مایع خون لخته شده که از گوساله‌های گاوی سالم، ذبح شده، با سن کمتر از ۲۰ روز و مناسب برای مصرف انسانی بر اساس بازرسی‌های قبل و/یا پس از ذبح^۶ به دست می‌آید، تعریف می‌شود. این سرم در کشتارگاه‌هایی که توسط مرجع صلاحیت‌دار کشور مبدأ بازرسی شده‌اند جمع‌آوری می‌شود. در این محصول هیچ‌گونه حذف یا افزودنی (از جمله مواد نگهدارنده) مجاز نیست. NNBCS، از گوساله‌های تازه متولد شده که هیچ آغوزی مصرف نکرده‌اند، اخذ می‌گردد، در صورتیکه NBCS، از گوساله‌های تا ۲۰ روز که ممکن است آغوز مصرف کرده باشند، استحصال می‌شود. بنابراین، سطح IgG در NBCS بالاتر از NNBCS است و ترکیب NBCS نزدیک‌تر به Calf Serum می‌باشد.

۳-۱۷-۲- سرم گوساله گاوی (Bovine Calf Serum – BCS): به عنوان بخش مایع خون لخته شده که از گوساله‌های گاوی سالم، ذبح شده، با سن ۲۰ روز تا ۱۲ ماه (این گروه سنی بین NBCS و Adult Bovine Serum قرار دارد) و مناسب

¹ Modification
² Treatment
³ Enhancement

⁴ Alteration
⁵ Preservatives
⁶ Ante- and/or post- mortem inspection

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

برای مصرف انسانی بر اساس بازرسی قبل و/یا پس از ذبح به‌دست می‌آید، تعریف می‌شود. این سرم در کشتارگاه‌هایی که توسط مرجع صلاحیت‌دار کشور مبدأ بازرسی می‌شوند، جمع‌آوری می‌گردد. در این محصول هیچ‌گونه حذف یا افزودنی (از جمله مواد نگهدارنده) مجاز نبوده و وجود ندارد. دلیل اینکه بازه سنی ۲۰ روز تا ۱۲ ماه مهم است این است که از نظر ایمنی زیستی (biosafety)، حیوان هنوز جوان محسوب می‌شود و ریسک برخی عوامل بیماری‌زا (مثلاً بعضی ویروس‌ها) در آن کمتر از گاو بالغ است؛ اما به دلیل سن بیشتر نسبت به NNBCS/NBCS، سطح آنتی‌بادی‌های سرمی (IgG) معمولاً بالاتر می‌باشد. از نظر ترکیب شیمیایی، پروفایل پروتئین‌ها و فاکتورهای رشد در آن نسبت به FBS و NNBCS کمتر مطلوب‌تر است، اما هنوز برای بسیاری از لاین‌های سلولی مورد استفاده قرار می‌گیرد. BCS باید یک سرم خام طبیعی باشد و هیچ ماده‌ای به آن اضافه نشده باشد، و هیچ ماده‌ای از آن حذف نشده باشد. حتی استفاده از مواد نگهدارنده‌ای از قبیل آنتی‌بیوتیک، استابلایزر، pH adjuster، heat-inactivation، پیش از تعریف محصول هم مجاز نمی‌باشد. چنین محصولی به عنوان Raw Bovine Serum / Untreated Calf Serum نیز شناخته می‌شود.

BCS از نظر طبقه‌بندی صنعت سرم به ترتیب سن حیوان به شرح زیر طبقه‌بندی می‌شوند:

- از جنین (FBS) Fetal Bovine Serum
- روز صفر، بدون آغوز (NNBCS) Neo-natal Bovine Calf Serum
- تا ۲۰ روز (NBCS) Newborn Calf Serum
- ۲۰ روز تا ۱۲ ماه (BCS) Bovine Calf Serum
- بالای ۱۲ ماه (ABS) Adult Bovine Serum

BCS معمولاً IgG بالاتر، فاکتورهای رشد کمتر، و قیمت پایین‌تر نسبت به FBS / NNBCS / NBCS دارد.

۴-۱۷-۲- سرم گاوی منبع‌گرفته از دام‌دهنده (Donor-sourced Bovine Serum – DBS): به‌عنوان بخش مایع خون لخته‌شده که از گاوهای سالم، ۱۲ ماهه یا بزرگ‌تر^۱ و متعلق به گله‌های اهداکننده کنترل‌شده^۲ به‌دست می‌آید، تعریف می‌شود. وضعیت سلامت این حیوانات از طریق بازرسی‌های منظم^۳ توسط دامپزشکان دارای صلاحیت قانونی^۴ تأیید می‌گردد. در این محصول هیچ‌گونه حذف یا افزودنی (از جمله مواد نگهدارنده) مجاز نیست. در اصل DBS نوعی سرم گاوی است که نه از کشتارگاه، بلکه از گله‌های زنده‌دام کنترل‌شده (Controlled Donor Herds) گرفته می‌شود. اخذ این نوع سرم فقط از گله‌هایی که مدیریت، تغذیه، واکسیناسیون، و وضعیت بهداشتی‌شان تحت کنترل شدید است، صورت می‌گیرد. این نوع سرم

¹ Clotted blood derived from healthy cattle 12 months of age

² Controlled donor herds

³ Regular inspection by competent

⁴ Legally authorized veterinarians

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

برای کاربردهایی که ردیابی کامل (traceability) و سطح ایمنی زیستی بالا نیاز دارند، انتخاب می‌شود. DBS با سرم‌هایی که از کشتارگاه تهیه می‌شوند کاملاً تفاوت داردف خون در DBS از حیوان زنده گرفته می‌شود نه از حیوان ذبح‌شده. این بازه سنی به معنای این است که حیوان کاملاً بالغ بوده و سطح آنتی‌بادی‌ها (IgG) در آن بالاست. ترکیب سرم از نظر فاکتورهای رشد نسبت به FBS/NNBCS/NBCS/BCS کمتر مطلوب است ولی برای کاربردهایی مانند تولید آنتی‌سرم، ایمونولوژی، بعضی محیط‌های کشت صنعتی، کنترل مثبت/منفی در تست‌ها، و واکسیناسیون دام بسیار ارزشمند است.

۵-۱۷-۲- سرم گاوی بالغ (Adult Bovine Serum – ABS): به‌عنوان بخش مایع خون لخته‌شده که از گاوهای سالم ذبح‌شده، ۱۲ ماه به بالا به‌دست می‌آید و براساس بازرسی قبل از ذبح (ante-mortem) و/یا پس از ذبح (post-mortem)، مناسب برای مصرف انسانی^۱ تشخیص داده شده‌اند، تعریف می‌شود. این سرم در کشتارگاه‌هایی که توسط مرجع صلاحیت‌دار کشور مبدأ بازرسی و تأیید شده‌اند جمع‌آوری می‌گردد. در این محصول هیچ‌گونه حذف یا افزودنی (از جمله مواد نگهدارنده) مجاز نیست. این سرم تحت الزامات Regulation (EC) No 1069/2009 بوده و ABS مشمول مقررات مواد جانبی دامی (ABP)^۲ و جزء 3 Category یا کم خطر محسوب می‌شود. از منظر رگولاتوری و ایمنی زیستی، و الزامات قابلیت ردیابی یا Traceability، شامل نام کشور، کد تأسیسات، تاریخ کشتار، و batch ID است.

۶-۱۷-۲- آنالوگ سرم گاوی بالغ (Adult Bovine Serum Analog (ABSA): به محصولی گفته می‌شود که از پردازش پلاسمای گاوی بالغ (Adult Bovine Plasma) به‌دست می‌آید؛ این پردازش از طریق افزودن کلسیم و سپس دیالیز یا انجماد (freezing) متعاقب آن انجام می‌شود. هر دو روش باعث لخته‌شدن فیبرین (fibrin clotting) و در نتیجه حذف آن از پلازما می‌شوند. پلاسمای مورد استفاده باید از گاوهای سالم ذبح‌شده با سن ۱۲ ماه یا بیشتر به‌دست آمده باشد که بر اساس بازرسی قبل از ذبح (ante-mortem) و/یا پس از ذبح (post-mortem) برای مصرف انسانی مناسب (fit for human consumption) تشخیص داده شده‌اند. این پلازما در کشتارگاه‌هایی (abattoirs) جمع‌آوری می‌شود که توسط مرجع صلاحیت‌دار (competent authority) کشور مبدأ بازرسی و تأیید شده‌اند. ABSA در اصل یک محصول مشتق‌شده از پلازما است که برای شبیه‌سازی ویژگی‌های سرم تولید می‌شود. در پلازما فیبرینوژن وجود دارد؛ با افزودن کلسیم یا انجماد، فیبرینوژن به فیبرین تبدیل شده و لخته تشکیل می‌دهد و سپس حذف می‌شود. بعد از حذف فیبرین، مایع باقی‌مانده از نظر ترکیب به سرم نزدیک می‌شود؛ به همین دلیل به آن Serum Analog گفته می‌شود.

¹ Fit for human consumption

² Animal by-product

سازمان غذا و دارو

عنوان	راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک		
شماره	GUI-DPNA-BIO-014	تاریخ شروع اجراء	۱۴۰۵/۰۳/۰۱
شماره بازنگری	00	تاریخ اعتبار	-

به طور کلی:

نکات کلیدی	کاربردها	پردازش	فاکتورهای رشد	IgG	وضعیت دام (ذبحی/غیر ذبحی)	سن دام	تعریف و منبع	نوع سرم
گران‌قیمت‌ترین	سلول‌های حساس، stem cells	فیلتراسیون	بسیار زیاد	بسیار کم	غیر ذبحی	جنینی	سرم جنینی حاصل از خون جنین در رحم	FBS (Fetal Bovine Serum)
آلودگی کم	سلول‌های حساس	لخته‌سازی طبیعی	بالا	بسیار کم	ذبحی	روز صفر	سرم گوساله روز تولد، بدون آغوز	NNBCS (Newborn Bovine Calf Serum – Uncolostrated)
اقتصادی‌تر از FBS	محیط‌های رشد متوسط	لخته‌سازی طبیعی	بالا	متوسط	ذبحی	کمتر از ۲ روز	سرم گوساله تا ۲۰ روز	NBCS (Newborn Calf Serum)
میان‌رده	کشت‌های مقاوم‌تر	لخته‌سازی طبیعی	متوسط	بالا	ذبحی	۲۰ روز تا کمتر از ۱۲ ماه	سرم گوساله بالغ‌تر	BCS (Bovine Calf Serum)
ارزان‌تر	محیط‌های مقاوم	لخته‌سازی طبیعی	کمتر	بسیار بالا	ذبحی، مناسب برای مصرف انسانی	بیشتر یا مساوی با ۱۲ ماه	سرم خون لخته‌شده گاو بالغ	ABS (Adult Bovine Serum)
ردیابی فردی عالی	فرآورده‌های تشخیصی، کنترل کیفیت	خون‌گیری کنترل‌شده	متوسط	بالا	غیر ذبحی	بیشتر یا مساوی با ۱۲ ماه	سرم خون‌گیری از گاوهای زنده	DBS (Donor Bovine Serum)
Derived Product، سرم واقعی نیست	جایگزین اقتصادی ABS/محیط‌های غیر حساس	Serum Analog (حذف فیبرین از پلاسما)	متوسط	بالا	ذبحی، مناسب برای مصرف انسانی	بیشتر یا مساوی با ۱۲ ماه	محصول پردازش پلاسما با افزودن Ca و دیالیز یا انجماد، حذف فیبرین	ABSA (Adult Bovine Serum Analog)

۱۸-۲- سرم جنینی گاوی (Fetal Bovine Serum – FBS) / سرم جنینی گوساله (FCS)

که با نام سرم جنینی گوساله (Fetal Calf Serum – FCS) نیز شناخته می‌شود، در شکل "سرم جنینی گاوی نیمه‌فرآوری‌شده (Semi-processed FBS)" از خون جنین‌های گاوی سالم به‌دست می‌آید. این جنین‌ها از گاوهای آبستن سالم پیش از زایمان

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

(pre-partum dams) منشأ می‌گیرند که بر اساس معاینات دامپزشکی پیش از کشتار (ante-mortem) و/یا پس از کشتار (post-mortem) برای مصرف انسانی مناسب^۱ تشخیص داده شده‌اند.

خون جنین^۲ در کشتارگاه‌هایی جمع‌آوری می‌شود که در کشور مبدأ تحت نظارت و بازرسی مرجع ذی‌صلاح (competent authority) قرار دارند. خون‌گیری از جنین به‌صورت آسپتیک و از طریق پانکچر قلبی (cardiac puncture) انجام می‌شود؛ روشی که خطر آلودگی میکروبی و در نتیجه تشکیل اندوتوکسین‌ها را کاهش می‌دهد.

عملیات جمع‌آوری در بخشی از کشتارگاه که به طور اختصاصی برای این منظور تعیین شده است انجام می‌شود تا خطر آلودگی ناشی از سایر مایعات زیستی به حداقل برسد. خون جنینی پس از جمع‌آوری اجازه داده می‌شود لخته (Clot) شود و سپس تحت سانتریفیوژ قرار می‌گیرد. سرم جنینی گاوی نیمه‌فرآوری‌شده^۳ همان بخش مایع حاصل از خون لخته‌شده جنین است.

پس از جداسازی از طریق سانتریفیوژ، هیچ‌گونه فرآوری (processing) یا تیمار اضافی (treatment) بر روی سرم نیمه‌فرآوری‌شده مجاز نیست. همچنین هیچ‌گونه افزودنی (از جمله مواد نگهدارنده)^۴ یا حذف ترکیبات در آن مجاز نمی‌باشد. سرم جنینی گاوی نیمه‌فرآوری‌شده تا زمان انجام مراحل بعدی فرآوری، به‌صورت منجمد نگهداری می‌شود.

۱-۱۸-۲- سرم جنینی گاوی شفاف‌شده (Clarified FBS): نوعی سرم جنینی گاوی نیمه‌فرآوری‌شده (Semi-processed FBS) است که در ابتدا ذوب (thawed)، با سایر نمونه‌های مشابه ترکیب (pooled) و در ادامه تحت سطوحی از فیلتراسیون (filtration) قرار گرفته است تا ناخالصی‌های فیزیکی احتمالی (مانند ذرات باقیمانده از لخته یا سلول‌ها) حذف شوند. پس از این مراحل، محصول در بسته‌بندی نهایی (final packaging) توزیع یا ذخیره می‌گردد. هیچ‌گونه فرآیند اضافی^۵، تیمار^۶، افزودنی^۷ یا حذف ترکیبات^۸ در این مرحله مجاز نیست. سرم شفاف‌شده^۹ تا پیش از انجام فرآیندهای بعدی، به حالت منجمد نگهداری می‌شود. هدف از Clarification در اینجا، کاهش ذرات معلق و افزایش شفافیت فیزیکی سرم برای بهبود کیفیت فرآیندهای بعدی (مثلاً فیلتراسیون استریل یا آزمون‌های کنترل کیفیت) است. Clarification در اینجا (فرآیند صنعتی): به معنای "زال‌سازی" یا "شفاف‌سازی" است. در صنعت سرم، پس از سانتریفیوژ کردن خون لخته‌شده، ممکن است مقادیر بسیار ناچیزی از بقایای لخته، چربی یا ذرات سلولی در سرم باقی بماند. مرحله Clarification با عبور دادن مایع از

¹ Fit for human consumption

² Fetal blood

³ Semi-processed FBS

⁴ Preservatives

⁵ Further processes

⁶ Treatment

⁷ Additions

⁸ Deletions

⁹ Clarified FBS

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

فیلترهای با تخلخل بالا (مثلاً فیلترهای عمقی یا Depth Filters) انجام می‌شود تا این ذرات معلق فیزیکی حذف شوند و مایع ظاهر زلال و یکنواختی پیدا کند.

- در تعریف انجمن ISIA، Clarified FBS همچنان در دسته‌ی Semi-processed sera (سرم‌های نیمه‌فرآوری شده) قرار دارد؛ یعنی هنوز محصول نهایی (Finished Product) محسوب نمی‌شود. مرحله‌ی Clarification صرفاً جنبه‌ی فیزیکی دارد (نه شیمیایی یا بیولوژیک)، بنابراین افزودن مواد نگهدارنده، نمک، آنتی‌بیوتیک، بافر یا هرگونه تیمار شیمیایی در این مرحله مغایر با استاندارد ISIA است. بنابراین، ممنوعیت هرگونه افزودنی (preservative)، تغییر ترکیب، یا حذف اجزا طبق استاندارد ISIA صراحتاً الزام‌آور است. در صنعت، Clarified FBS مرحله‌ای بین Semi-processed و Processed FBS محسوب می‌شود و معمولاً به‌عنوان ماده‌ی اولیه برای تولید سرم‌های فیلترشده‌ی استریل (Sterile Filtered FBS) استفاده می‌گردد.

۲-۱۸-۲- سرم جنینی گاوی فرآوری شده (Processed FBS): سرم جنینی گاوی فرآوری شده (Processed FBS) سرم جنینی گاوی نیمه‌فرآوری شده یا شفاف‌شده‌ای است که تحت فرآیندهای پردازش استاندارد قرار گرفته است. این فرآورده ممکن است شامل ذوب، اختلاط (pooling)، فیلتراسیون و سایر مراحل پردازش فیزیکی لازم، باشند که با هدف آماده‌سازی سرم برای تولید محصول نهایی انجام می‌شوند. در این مرحله نیز هیچ‌گونه افزودنی، ماده نگهدارنده، یا حذف اجزای طبیعی سرم مجاز نیست، مگر در مواردی که صراحتاً در مشخصات محصول یا نوع سرم (مانند سرم‌های تغییر یافته یا Specialty sera) تعریف شده باشد. سرم جنینی گاوی فرآوری شده معمولاً به‌عنوان ماده‌ی اولیه برای تولید سرم‌های استریل فیلتر شده مورد استفاده قرار می‌گیرد و تا زمان استفاده یا انجام مراحل بعدی فرآوری، در حالت منجمد نگهداری می‌شود. در صنعت، Processed FBS مرحله‌ای است که در آن کنترل یکنواختی دسته (Batch uniformity) و آماده‌سازی برای فیلتراسیون استریل انجام می‌شود.

۲-۱۸-۳- سرم جنینی گاوی فیلتر استریل شده (Sterile Filtered FBS): سرم جنینی گاوی فیلتر استریل شده (Sterile Filtered FBS)، سرم جنینی گاوی فرآوری شده‌ای است که از طریق فیلتراسیون استریل (sterile filtration) عبور داده شده است تا میکروارگانیسم‌های زنده از جمله باکتری‌ها و قارچ‌ها حذف شوند. این فیلتراسیون معمولاً با استفاده از فیلترهای غشایی با اندازه منفذ مناسب (به‌طور متداول حدود ۰٫۱ تا ۰٫۲ میکرومتر) و تحت شرایط آسپتیک انجام می‌شود. پس از فیلتراسیون استریل، سرم در ظروف نهایی استریل بسته‌بندی شده و برای کاربردهای تحقیقاتی یا صنعتی عرضه می‌گردد. در این نوع سرم نیز هیچ‌گونه افزودنی یا حذف اجزای طبیعی سرم مجاز نیست، مگر آنکه محصول به‌طور خاص به‌عنوان سرم

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

تغییر یافته (Modified/Altered Serum) تعریف شده باشد. Sterile Filtered FBS معمولاً محصول نهایی قابل استفاده در کشت سلولی محسوب می‌شود و باید الزامات آزمون‌های کنترل کیفیت مانند آزمون استریلیتی، آزمون اندوتوکسین (LAL test)، آزمون مایکوپلاسما، آزمون ویروسی (در صورت نیاز)، را برآورده کند.

در زنجیره تولید سرم جنینی گاوی یا (FBS)، مراحل معمولاً به ترتیب زیر در صنعت سرم رخ می‌دهند و تواتر دارد:

1- Semi-processed FBS

به سرم جدا شده از خون جنین پس از سانتریفیوژ، اطلاق می‌شود.

2- Clarified FBS

سرم نیمه‌فرآوری شده که ذوب، pool و تا حدی فیلتر شده است.

3- Processed FBS

سرم آماده‌سازی شده برای تولید نهایی را گویند.

4- Sterile Filtered FBS

به سرم استریل شده توسط فیلتر و آماده مصرف گفته می‌شود.

۴-۱۸-۲- سرم جنین گاوی فیلتر شده به روش آسپتیک (Aseptically filtered FBS):

سرم جنین گاوی فیلتر شده به روش آسپتیک نوعی سرم جنین گاوی نیمه‌فرآوری شده است که به روش فوق‌الذکر به دست می‌آید. این سرم پس از ذوب شدن، ترکیب و فیلتر شدن (معمولاً از مجموعه‌ای از فیلترهای غشایی که در نهایت به یک فیلتر استریل ۰.۱ میکرون ختم می‌شود)، به صورت آسپتیک در بسته‌بندی نهایی پر شده، برچسب‌گذاری و روانه بازار می‌شود. هیچ فرآوری، افزودن یا حذف دیگری مجاز نیست. سرم جنین گاوی فیلتر شده استریل به صورت منجمد نگهداری می‌شود. این محصول را می‌توان با پرتو دهی گاما^۱ یا غیرفعال‌سازی حرارتی^۲ فرآوری کرد و برچسب آن را متناسب با روش به کار رفته برچسب‌گذاری کرد.

۵-۱۸-۲- سرم جنین گاوی پیش‌صلاحیت شده (پیش‌ارزیابی شده) یا غربال شده (Pre-Qualified or Screened FBS):

سرمی فیلتر شده و استریل است که پس از ارزیابی و تأیید مناسب بودن (ارزیابی صلاحیت، qualification) آن برای کاربردهای خاص متعدد، عرضه می‌گردد. نمونه‌هایی از این ارزیابی‌ها می‌تواند شامل موارد زیر باشد:

¹ Gamma irradiation

² Heat inactivation

عنوان			راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک
شماره	GUI-DPNA-BIO-014	تاریخ شروع اجراء	۱۴۰۵/۰۳/۰۱
شماره بازنگری	00	تاریخ اعتبار	-

- سرم غربال شده برای کشت سلول‌های هیبریدوما (Hybridoma screened)
- سرم غربال شده برای کشت سلول‌های بنیادی (Stem Cell screened)
- سرم غربال شده برای کشت سلول‌های حشرات (Insect Cell screened)
- سرم آزمون شده با سطح اندوتوکسین پایین (Low Endotoxin tested)
- سرم آزمون شده با سطح پایین ایمونوگلوبولین G (Low IgG tested)

سرم جنینی گاوی پیش‌ارزیابی شده یا غربال شده می‌تواند بر اساس کاربردی که برای آن ارزیابی و تأیید شده است، برچسب‌گذاری شود. در این نوع سرم، ابتدا Sterile Filtered FBS استاندارد تولید می‌شود. سپس نمونه‌هایی از هر Lot در آزمون‌های عملکردی (Performance assays) بررسی می‌شوند. اگر سرم عملکرد مناسبی برای یک کاربرد خاص نشان دهد، آن Lot به‌عنوان Screened یا Pre-Qualified برای همان کاربرد، برچسب‌گذاری شده و عرضه می‌شود.

۶-۱۸-۲- سرم جنینی گاوی خاص (Specialty FBS)، سرم جنینی گاوی است که یا به‌عنوان یک محصول نیمه‌فرآوری شده یا استریل فیلتر شده، تحت یک یا چند فرآیند اصلاح، تغییر یا بهبود قرار گرفته است. این فرآیندها ممکن است شامل دیالیز^۱، حذف با زغال فعال^۲، حذف IgG، تغییر pH، افزایش عملکرد، خشک‌سازی^۳ و بازسازی^۴ باشند. سرم جنینی گاوی تخصصی باید برچسب‌گذاری شود به‌گونه‌ای که به‌وضوح مشخص باشد که این محصول تعدیل^۵، اصلاح^۶ یا تغییر یافته^۷ است. در Specialty FBS هر کدام از فرآیندهای اصلاحی، هدف علمی مشخصی دارند و معمولاً برای کاربردهای خاص کشت سلولی یا تحقیقات زیست‌پزشکی استفاده می‌شوند. مهم‌ترین انواعی که در تعریف ISIA نیز ذکر شده‌اند عبارتند از:

۱-۶-۱۸-۲- Dialyzed FBS: سرمی است که از طریق دیالیز (Dialysis) مولکول‌های کوچک محلول از آن حذف شده‌اند. ترکیباتی که از این سرم حذف می‌شوند عبارتند از اسیدهای آمینه آزاد، گلوکز، نمک‌ها، هورمون‌های کوچک، و متابولیت‌ها، و هدف از حذف آنها، کنترل دقیق ترکیب محیط کشت می‌باشد. از کاربردهای آن می‌توان در مطالعات متابولیسم سلولی، تحقیقات وابستگی سلول به اسیدهای آمینه، و آزمایش‌های تغذیه‌ای سلول، اشاره نمود.

¹ Dialyzed serum
² Charcoal Stripped
³ Dehydration
⁴ Reconstitution

⁵ Modified
⁶ Enhanced
⁷ Altered

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

۲-۱۸-۶-۲ Charcoal Stripped FBS: سرمی است که با زغال فعال (Activated Charcoal) تیمار شده است تا مولکول‌های هیدروفوب حذف شوند. معمولاً هورمون‌های استروئیدی، فاکتورهای رشد لیپوفیل، و برخی ویتامین‌ها از این سرم حذف می‌شوند. هدف از حذف این ترکیبات، حذف سیگنال‌های هورمونی ناخواسته از سرم می‌باشد. از کاربردهای این نوع سرم می‌توان به تحقیقات هورمونی، مطالعات گیرنده‌های استروئیدی، و آزمایش‌های اندوکرینولوژی، اشاره نمود.

۲-۱۸-۶-۳ IgG-Stripped FBS: اسرمی است که ایمونوگلوبولین G (IgG) از آن با روشی از قبیل کروماتوگرافی و تخلیص بر اساس میل ترکیبی ماده (Affinity purification)، با هدف کاهش تداخل آنتی‌بادی‌های طبیعی موجود در سرم، حذف شده است. از کاربردهای این نوع سرم می‌توان در مطالعات تولید آنتی‌بادی، مطالعات ایمنی‌شناسی، و آزمایش‌های ایمونولوژیک، اشاره نمود.

۲-۱۸-۶-۴ pH-Treated FBS: سرمی است که pH آن به طور کنترل شده تغییر داده شده و سپس دوباره تنظیم شده باشد. هدف از آن، غیرفعال کردن یا حذف برخی پروتئین‌ها و فاکتورهای ناپایدار، می‌باشد. از کاربردهای این نوع سرم می‌توان به انجام تحقیقات ویروس‌شناسی، و مطالعات پایداری پروتئین، اشاره کرد.

۲-۱۸-۶-۵ Performance-Enhanced FBS: به سرم گفته می‌شود که به نحوی بهینه‌سازی شده تا عملکرد رشد سلول‌ها را افزایش دهد. این بهبود ممکن است شامل انتخاب Batch‌های خاص، یا ترکیب چند Batch، و انجام فرآوری اضافی بر روی سرم باشد و هدف آن افزایش نرخ تکثیر سلولی است. از کاربردهای آن میتوان به تولید واکسن، تولید بیولوژیک‌ها، و کشت سلول در مقیاس صنعتی اشاره نمود.

۲-۱۸-۶-۶ Dehydrated FBS: به سرمی که خشک شده (معمولاً با Lyophilization) باشد، گفته می‌شود. از ویژگی‌های این نوع سرم میتوان به پایداری بیشتر در نگهداری، و حمل‌ونقل آسان‌تر، اشاره نمود. قبل از مصرف لازم است این نوع سرم با آب استریل، بازسازی (Reconstitution) شود.

۲-۱۸-۶-۶ Reconstituted FBS: سرم خشک‌شده‌ای که دوباره در حلال مناسب حل شده و به حالت مایع برگشته است، گفته می‌شود.

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

از منظر رگولاتوری (طبق ISIA)، محصولی که تحت این فرآیندها قرار گرفته است: دیگر FBS استاندارد محسوب نمی‌شود و باید در برچسب، نوع تغییر دقیق ذکر شود. در صنعت سرم، یک اصل وجود دارد و اینکه FBS استاندارد، بدون هرگونه حذف یا افزودنی، است، به همین دلیل هر تغییری در ترکیب سرم باعث می‌شود محصول در دسته Specialty FBS قرار بگیرد.

۱۹-۲- سرم تغییر یافته (Altered Serum)

اصطلاح Altered Serum به سرمی گفته می‌شود که ترکیب طبیعی آن پس از جمع‌آوری به‌صورت عمدی تغییر داده شده یا اصلاح شده است تا ویژگی‌های خاصی برای کاربردهای آزمایشگاهی یا کشت سلولی ایجاد شود. این تغییرات می‌توانند شامل مواردی از قبیل افزودن مواد خاص (مانند آهن، هورمون‌ها یا فاکتورهای رشد)، حذف یا کاهش برخی اجزا (مانند Immunoglobulins یا Complement)، و پردازش فیزیکی یا شیمیایی برای تغییر عملکرد سرم، باشد. در بسیاری از منابع و کاتالوگ‌های علمی، اصطلاح Altered Serum معمولاً مترادف با "Modified Serum" (سرم اصلاح‌شده) در نظر گرفته می‌شود و اغلب به همان معنی استفاده می‌شود.

از نظر رگولاتوری (Regulatory) اصطلاح Altered Serum معمولاً یک اصطلاح توصیفی یا تجاری است و در اغلب مقررات رسمی (مانند USP، FDA یا EMA) به‌عنوان یک دسته‌بندی استاندارد مستقل تعریف نشده است. به همین دلیل در اسناد رگولاتوری معمولاً از اصطلاح دقیق‌تر Modified Serum استفاده می‌شود. بنابراین، در چارچوب رگولاتوری، Altered / Modified Serum به سرمی اشاره دارد که پس از جمع‌آوری، ترکیب آن به‌صورت عمدی تغییر داده شده یا پردازش اضافی روی آن انجام شده است. مثالهایی از این سرم عبارتند از: Heat-inactivated serum (غیرفعال‌سازی کمپلمان با حرارت)، سرم‌های غنی شده با آهن (Iron-supplemented serum)، سرم‌های دیالیز شده (Dialyzed serum)، سرم‌های عاری از ایمونوگلوبولین-G (IgG-depleted serum)، و سرم تیمار شده با زغال فعال (Charcoal-Stripped Serum).

سرم دیالیز شده، سرمی است که با فرآیند دیالیز (Dialysis) پردازش شده تا مولکول‌های کوچک مانند: نمک‌ها، اسیدهای آمینه آزاد، گلوکز، هورمون‌های کوچک، و متابولیت‌ها از آن حذف یا کاهش داده شوند، در حالی که پروتئین‌های بزرگ سرم (مثل آلبومین و فاکتورهای رشد) باقی می‌مانند. کاربرد آن در کشت سلولی و آزمایش‌های متابولیکی، و زمانی که پژوهشگر می‌خواهد ترکیب محیط را دقیقاً کنترل کند. سرم تیمار شده با زغال فعال یا سرم حذف‌شده با زغال فعال، سرمی است که با استفاده از زغال فعال به‌ویژه، هورمون‌های استروئیدی (مانند استروژن و تستوسترون)، برخی لیپیدها، فاکتورهای رشد وابسته به هورمون، و بعضی متابولیت‌های کوچک از آن حذف می‌شوند. این فرآیند معمولاً با charcoal همراه با dextran انجام می‌شود. کاربرد رایج آن در

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

آزمایش‌های اندوکرینولوژی و کشت سلولی وابسته به هورمون، برای ایجاد محیطی با سطح بسیار پایین هورمون‌ها است تا بتوان اثر افزودن هورمون خاص را دقیق بررسی کرد.

۲۰-۲- آنتی سرم (Antisera) / سرم ایمنی (Immune Serum)

آنتی سرم‌ها (Antisera) به سرمی حاوی آنتی‌بادی‌ها اطلاق می‌شود؛ مانند سرمی که از حیوانی به دست می‌آید که در معرض آنتی‌ژن قرار گرفته است، خواه از طریق تزریق آنتی‌ژن به بافت‌ها یا خون و یا از طریق عفونت. این نوع سرم سرم ایمنی (Immune serum) نیز نامیده می‌شود. از ویژگی اصلی این نوع سرم، وجود آنتی‌بادی‌های اختصاصی علیه یک آنتی‌ژن خاص است. از کاربردهای این نوع سرم، در مواردی از قبیل، تشخیص آزمایشگاهی (ایمونواسی‌ها)، درمان غیرفعال برخی بیماری‌ها (مانند آنتی‌سرم مارگزیدگی)، تحقیقات ایمونولوژی، و تولید کنترل‌های مثبت در آزمایش‌ها است.

۲۱-۲- آنالوگ سرم گاوی بالغ (Adult Bovine Serum Analog):

آنالوگ سرم گاوی بالغ؛ فرآورده‌ای جایگزین که به صورت مصنوعی یا نیمه‌مصنوعی طراحی شده تا از نظر ترکیب و عملکرد، ویژگی‌های سرم گاوی بالغ را تقلید کند و معمولاً در محیط‌های کشت سلولی یا کاربردهای زیست‌فناورانه به عنوان جایگزین سرم طبیعی به کار می‌رود.

ملاحظات رگولاتوری در مورد آنالوگ سرم گاوی بالغ شامل الزامات مرتبط با ایمنی، کیفیت، منشأ مواد اولیه، و قابلیت ردیابی است. از آنجا که این فرآورده‌ها به عنوان جایگزین سرم طبیعی در کشت سلولی و تولید فرآورده‌های زیستی به کار می‌روند، لازم است از نظر عدم وجود عوامل بیماری‌زا، ثبات ترکیب، یکنواختی بین بچ‌ها (Batch-to-batch consistency) و قابلیت تکرارپذیری عملکرد در محیط‌های کشت مورد ارزیابی قرار گیرند. همچنین تولیدکننده باید اطلاعات دقیقی درباره ترکیب، روش تولید، کنترل‌های کیفی، و مواد اولیه مورد استفاده ارائه دهد. در صورت استفاده در تولید محصولات زیستی یا دارویی، ارزیابی ریسک مربوط به انتقال عوامل قابل انتقال (Adventitious agents) و تأثیر آن بر کیفیت و ایمنی محصول نهایی نیز ضروری است. رگولاتورها معمولاً مستندات مربوط به مشخصات فیزیکوشیمیایی و زیستی، روش‌های آزمون، معیارهای پذیرش، و اعتبارسنجی فرآیند تولید را برای اطمینان از انطباق با الزامات GMP و استانداردهای زیستی بررسی می‌کنند.

از منظر رگولاتوری، آنالوگ سرم گاوی بالغ (Adult Bovine Serum Analog) به عنوان یک ماده کمکی در فرایند تولید (process-) (related material / raw material) در تولید فرآورده‌های زیستی در نظر گرفته می‌شود و نه به عنوان ماده دارویی فعال. بنابراین

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

ارزیابی آن عمدتاً در چارچوب کنترل مواد اولیه مورد استفاده در تولید محصولات بیولوژیک انجام می‌شود. به‌طور کلی، در ارزیابی رگولاتوری، تمرکز بر این است که استفاده از آنالوگ سرم ریسک‌های زیستی سرم حیوانی را کاهش دهد، در عین حال کیفیت و قابلیت تکرارپذیری فرایند تولید محصولات بیولوژیک را تضمین کند.

مهم‌ترین ملاحظات رگولاتوری عبارت‌اند از:

منشأ و ردیابی مواد اولیه: تولیدکننده باید منشأ تمام اجزای تشکیل‌دهنده آنالوگ سرم را مشخص کند و قابلیت ردیابی کامل مواد اولیه را ارائه دهد. اگر اجزای حیوانی وجود داشته باشند، ارزیابی ریسک مربوط به عوامل بیماری‌زا مانند ویروس‌ها یا عوامل TSE/BSE ضروری است.

ترکیب و مشخصات (Specifications): ترکیب آنالوگ باید به‌طور دقیق تعریف شود و مشخصات فیزیکوشیمیایی و زیستی آن (مانند pH، اسمولالیته، محتوای پروتئین، فاکتورهای رشد و غیره) تعیین و کنترل گردد.

ثبات و یکنواختی بین بچ‌ها: یکی از اهداف استفاده از آنالوگ سرم کاهش تغییرپذیری سرم طبیعی است؛ بنابراین رگولاتورها بر ثبات ترکیب و یکنواختی عملکرد بین بچ‌های مختلف تأکید دارند.

کنترل آلودگی‌های زیستی: لازم است آزمون‌های مناسب برای عدم وجود میکروارگانیسم‌ها، مایکوپلاسما، اندوتوکسین و عوامل ویروسی احتمالی انجام شود.

تأثیر بر محصول نهایی: تولیدکننده باید نشان دهد که استفاده از آنالوگ سرم بر کیفیت، ایمنی و کارایی محصول بیولوژیک نهایی اثر نامطلوبی ندارد و در صورت لزوم مطالعات مقایسه‌ای با سرم گاوی انجام دهد.

انطباق با الزامات GMP: تولید (manufacturing)، کنترل کیفیت (quality control)، مستندسازی (documentation) و ذخیره‌سازی (storage) آنالوگ سرم باید مطابق اصول Good Manufacturing Practice (GMP) انجام شود.

۲-۲۲- سرم اسب اهداکننده (Donor Horse Serum)

سرمی است که از اسب‌های سالم و کنترل‌شده جمع‌آوری می‌شود و برای استفاده در کشت سلول، ایمونولوژی، ویروس‌شناسی و زیست‌فناوری فرآوری و فیلتر می‌شود. سرم اسب نسبت به سرم گاوی ترکیب پروتئینی متفاوتی دارد، به‌طوری‌که معمولاً کمپلمان فعال دارد (Active complement) و برای برخی کاربردها، کمپلمان‌زدایی توسط فرآیندهایی مانند غیرفعال سازی حرارتی یا (Heat inactivation) لازم است. پایداری و یکنواختی آن از نظر ترکیب معمولاً بهتر از FBS است. از کاربردهای رایج آن، کشت سلول‌های خاص (به‌ویژه سلول‌های اولیه و سلول‌های عصبی/گلیال)، انجام تست‌های ایمونولوژی و سرولوژی. تولید آنتی‌سرم و واکسن‌های تحقیقاتی، می‌باشد. از منظر ملاحظات رگولاتوری، در صورت استفاده از این سرم در تولید محصول، کماکان نیازمند ارائه گواهی

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

منشأ (Certificate of Origin)، گواهی آنالیز (Certificate of Analysis) شامل تست‌های ویروس، میکروبی، مایکوپلاسما، همراه با Viral Safety Documentation بوده، هر چند که ریسک TSE در اسب بسیار ناچیز است، اما بررسی منبع همچنان ضروری است.

۲۳-۲- سرم گوساله غنی‌شده با آهن (Iron Fortified Calf Serum; IFCS)^۱

Iron Fortified Calf Serum نوعی سرم گوساله (Calf Serum) است که در مرحله فراوری (Processing) یا پس از آن، با ترکیبات آهن‌دار قابل دسترس زیستی غنی‌سازی می‌شود. هدف اصلی آن بهبود رشد سلولی در کشت‌هایی است که به آهن بیشتر نیاز دارند. Iron-fortified calf serum معمولاً باعث افزایش رشد و تکثیر سلول‌ها می‌شود، مخصوصاً در مورد برخی رده‌های سلولی که برای متابولیسم و سنتز DNA نیاز آهن بالاتری دارند، مانند سلول‌های طناب نخاعی، سلول‌های خونساز، رده‌های توموری با رشد سریع، سلول‌های تولیدکننده پروتئین (CHO و HEK293). همچنین این نوع سرم باعث بهبود سنتز هموگلوبین یا پروتئین‌های آهن‌دار می‌شود که این وضعیت رد مورد سلول‌های رده‌های اریتروپوئتیک حائز اهمیت است. همچنین این سرم به عنوان جایگزینی نسبی برای Fetal Bovine Serum در برخی کاربردها معرفی شده است. تفاوت IFCS با Calf Serum معمولی این است که در Calf Serum طبیعی، سطح آهن کم و متغیر است، و دلیل آن سن حیوان، شرایط تغذیه، فرایند خون‌گیری، و روش فیلتراسیون می‌باشد. در صورتیکه سرم‌های Iron-fortified، نسخه‌ای است که سطح آهن استاندارد، کنترل‌شده و تکرارپذیر داشته و برای رده‌های حساس مناسب‌تر است، و از Variability طبیعی سرم کم می‌کند. از لحاظ ملاحظات رگولاتوری کیفیت برای Iron-fortified Calf Serum، تولیدکنندگان باید اطلاعاتی را در گواهی آنالیز (COA) و اسناد جانبی سرم پیشنهادی خود ارائه دهند؛ از جمله اینکه میزان و مقدار آهن افزوده‌شده باید دقیق مشخص شود که معمولاً بر حسب $\mu\text{g/mL}$ Iron یا Iron-binding capacity است. همچنین، نوع ترکیب آهن باید مشخص شود که معمولاً به صورت Ferric citrate، Holo-transferrin، و Iron chelates می‌باشد. در این موارد نیز انجام آزمون‌های استاندارد سرم ضروری است، که شامل آزمون‌های Mycoplasma، آزمون Sterility، آزمون سنجش Endotoxin، آزمایشات سنجش ویروسی (Viral testing (BVD, BVDV, IBR, PI3, reovirus, etc.))، سنجش pH و Osmolality، و میزان پروتئین کل، آلبومین، گلوبولین، می‌شود. همچنین مستندات آزمایشات ایمنی زیستی و Safety ضروری است که ضمیمه شود (Safety documentation) که عبارتند از TSE/BSE statement، منشأ کشور تولیدکننده و فراوری شده (Country of origin)، مستندات Traceability documentation، و در صورت اعمال، گواهی تایید گاما (Gamma irradiation certificate). در نهایت اینکه، سرم Iron-fortified calf جایگزین کامل FBS نیست، اما می‌تواند در کاربردهای مانند تولید پروتئین، رشد رده‌هایی که نیاز آهن دارند، کاهش هزینه تولید، و فرمولاسیون محیط‌های بدون سرم (SFM) به عنوان Supplement، کمک‌کننده باشد.

^۱ Iron-Supplemented Calf Serum, Iron-Enriched Calf Serum

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

۲۴-۲- بافت‌های با خطر مشخص (Specified Risk Material (SRM))

بافت‌های با خطر مشخص (برای انتقال TSE/BSE)، یا SRM به بافت‌ها یا اندام‌های خاصی از حیوانات (به‌ویژه گاو) گفته می‌شود که احتمال دارد عامل بیماری‌های پریونی مانند Bovine Spongiform Encephalopathy (BSE) را در خود داشته باشند. به همین دلیل این بافت‌ها در بسیاری از مقررات به‌طور سخت‌گیرانه از زنجیره غذایی و تولید محصولات دارویی و بیولوژیک حذف می‌شوند. نمونه‌هایی از SRM در گاو بسته به مقررات کشور و سن حیوان، معمولاً شامل مواردی است که عبارتند از Brain (مغز)، Spinal cord (نخاع)، Eyes (چشم‌ها)، Skull (جمجمه)، عقده‌های عصب تری‌ژمینال (سه قلو) مغزی^۱، گانگلیون (عقده‌های) عصب پشتی نخاع^۲، لوزه‌ها^۳، بخش انتهایی روده کوچک^۴؛ که گفته شده است که این بافت‌ها بیشترین بار پریون (Prion infectivity) را دارند. همواره در تولید محصولات بیولوژیک مانند سرم جنینی گاوی (FBS)، آلبومین سرم گاوی (BSA)، آنزیم‌های با منشأ حیوانی مانند آنزیم تریپسین (خوکی)، ژلاتین، و واکسن‌ها، می‌بایست محرز شود که مواد اولیه از SRM مشتق نشده‌اند، منبع حیوان از کشور با ریسک پایین BSE است، و ردیابی کامل (Traceability) برای آنها وجود دارد. SRM مستقیماً با بیماری‌هایی از قبیل BSE یا Bovine Spongiform Encephalopathy و بیماری کروتسفیلد-جاکوب (شکل جدید یا گونه‌ی مرتبط با گاوی)^۵ مرتبط است. به همین دلیل حذف SRM یکی از مهم‌ترین اقدامات کنترل ایمنی زیستی (Biological Safety) در زنجیره تأمین مواد حیوانی است.

۲۵-۲- کشور مبدأ/کشور خاستگاه (Country of origin; COO)

کشور مبدأ (Country of Origin) یا به اختصار COO به کشوری گفته می‌شود که محصول از آن منشأ می‌گیرد؛ یعنی کشوری که در آن محصول تولید، ساخته یا حیوان منبع آن ذبح^۶ شده است. به بیان دیگر، کشوری که حیوانی که منبع فرآورده جانبی حیوانی (ABP)^۷ یا محصول مشتق شده (Derived Product) بوده، در آن پرورش یافته یا ذبح شده است. طبق برنامه قابلیت ردیابی (ISIA Traceability Program) انجمن بین‌المللی صنعت سرم (ISIA)^۸، در گواهی آنالیز (Certificate of Analysis – CoA) باید همه مبدأهای موجود ذکر شوند؛ اگر محصول از مخلوط چند منبع تهیه شده باشد، لازم است درصد سهم

^۱ Trigeminal ganglia

^۲ Dorsal root ganglia

^۳ Tonsils

^۴ Distal ileum

^۵ Variant Creutzfeldt-Jakob Disease (vCJD)

vCJD یک بیماری نادر اما مرگ‌بار نورودژنراتیو (تخریب‌کننده بافت عصبی) در انسان است که بر اثر آلودگی به پریون‌ها (Prions) – یعنی پروتئین‌های غیرعادی با قابلیت القای تغییر

شکل در پروتئین‌های طبیعی مغز – ایجاد می‌شود. این نوع خاص از CJD با مصرف فرآورده‌های آلوده به عامل BSE (Bovine Spongiform Encephalopathy) در گاو مرتبط است. از این رو vCJD را «شکل انسانی BSE (Mad Cow Disease)» نیز می‌نامند.

^۶ Slaughter

^۷ Animal By-Product (ABP)

^۸ International Serum Industry Association

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

هر مبدأ نیز مشخص شود. ISIA به‌طور کلی استفاده از مخلوط منابع مختلف را توصیه نمی‌کند، مگر در برخی موارد خاص مانند سرم‌های آمریکای مرکزی. با این حال، در مورد محصولات میانی پیچیده که از دو یا چند محصول مشتق‌شده با مبدا‌های متفاوت تشکیل شده‌اند، کشور محل تولید (Country of Manufacture) محصول میانی نهایی به‌عنوان کشور مبدأ قابل استناد است.

۲۶-۲- محصولات مشتق شده (Derived products)

محصولات مشتق‌شده (Derived Products)، محصولاتی هستند که از انجام یک یا چند مرحله تیمار^۱، تبدیل^۲ یا فرآوری بر روی مواد جانبی حیوانی (ABP)^۳ به دست می‌آیند. بر طبق مقرره (EC) شماره ۱۰۶۹/۲۰۰۹ اتحادیه اروپا، ماده ۳ بند ۴^۴، که یکی از مقررات اصلی اتحادیه اروپا برای مدیریت مواد جانبی حیوانی (Animal By-Products – ABP) است؛ یعنی موادی با منشأ حیوانی که برای مصرف انسانی استفاده نمی‌شوند. این مقرره در سال ۲۰۰۹ تصویب شد و هدف آن جلوگیری از خطرات بهداشتی برای انسان، حیوان و محیط‌زیست در اثر استفاده یا دفع نامناسب این مواد است. هدف اصلی مقرره این قانون ارائه چارچوبی برای جمع‌آوری، حمل، ذخیره و دفع ایمن مواد جانبی حیوانی، فرآوری و استفاده مجدد از این مواد در صنایع مختلف، کاهش خطر انتقال بیماری‌ها (به‌ویژه بیماری‌های مشترک انسان و دام مانند BSE)، و ایجاد سیستم ردیابی (traceability) برای کل زنجیره تأمین، می‌باشد.

طبق ماده ۳(۱) این مقرره، مواد جانبی حیوانی یا Animal by-products (ABP)، شامل لاشه حیوانات یا اجزای آن‌ها، محصولات با منشأ حیوانی، تخمک، جنین و اسپرم، و خون، استخوان، پوست، چربی، و سایر بافت‌ها، به شرطی که برای مصرف انسانی در نظر گرفته نشده باشند، می‌باشد.

طبق ماده ۳(۲) این مقرره، محصولات مشتق‌شده (Derived products (DP)، محصولاتی هستند که از پردازش مواد جانبی حیوانی به دست می‌آیند که شامل ترکیباتی از قبیل ژلاتین، کلاژن، پپتون‌ها، چربی‌های صنعتی، آلبومین سرم گاوی (BSA)، و برخی سرم‌های فرآوری‌شده هستند.

طبقه‌بندی ریسک مواد جانبی حیوانی: این مقرره مواد جانبی حیوانی یا ABP را به سه دسته خطر (ریسک) تقسیم بندی می‌کند که عبارتند از:

¹ Treatments

² Transformations

³ Processing of animal by-products

⁴ Regulation (EC) No 1069/2009 Article 3(2)

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

دسته ۱ (بالاترین خطر): مواد با ریسک بالا برای انتقال بیماری که عبارتند از، مواد مرتبط با BSE/TSE، حیوانات آزمایشگاهی آلوده، بافت‌های با خطر مشخص^۱ مانند مغز و نخاع (که بیشترین احتمال حمل عامل بیماری BSE (جنون گاوی یا همان عامل پریونی) را دارند).

دسته ۲ (مواد با خطر متوسط): مانند لاشه حیوانات مرده در مزرعه، کود دامی، و مواد آلوده.

دسته ۳ (مواد کم خطر): مواد از حیواناتی که برای مصرف انسانی مناسب تشخیص داده شده‌اند (fit for human consumption) اما به دلایل تجاری مصرف نمی‌شوند. مانند خون، پوست، استخوان، و سرم گاوی. این دسته از مواد می‌تواند در تولید محصولات بیوتکنولوژی، خوراک حیوانات، داروها، و مواد آزمایشگاهی استفاده شود.

۲۷-۲- محصول واسط (Intermediate Product)

فرآورده حدواسط یا میانی، به یک محصول مشتق شده (Derived Product) گفته می‌شود که دارای کاربردهای مشخصی مطابق با مقررات (Regulation) است. این محصول برای استفاده نهایی در بخش زیست‌پزشکی (bio-medical sector) هنوز به برخی مراحل پردازش یا آماده‌سازی بیشتر نیاز دارد. شرایط تعریف محصول واسط:

۱) محصولی که برای تولید مواردی از قبیل، داروهای انسانی (Medicinal products)، داروهای دامپزشکی (Veterinary medicinal products)، تجهیزات پزشکی (Medical devices)، تجهیزات پزشکی قابل کاشت فعال (Active implantable medical devices)، تجهیزات تشخیص آزمایشگاهی (In vitro diagnostic medical devices – IVD)، و معرف‌های آزمایشگاهی (Laboratory reagents)، در نظر گرفته شده باشد.

۲) محصولی که طراحی، تبدیل و مراحل تولید آن به اندازه‌ای تکمیل شده باشد که بتوان آن را یک محصول مشتق شده (Derived Product) در نظر گرفت و بتواند به طور مستقیم یا به عنوان جزء یک محصول برای اهداف فوق مورد استفاده قرار گیرد.

۳) با این حال، این محصول هنوز به برخی عملیات تکمیلی نیاز دارد، مانند: اختلاط (Mixing)، پوشش‌دهی (Coating)، مونتاژ (Assembling)، بسته‌بندی (Packaging)، برچسب‌گذاری (Labelling)؛ تا بتوان آن را به عنوان، دارو، داروی دامپزشکی، تجهیزات پزشکی، تجهیزات پزشکی کاشتنی فعال، تجهیزات تشخیص آزمایشگاهی، و معرف آزمایشگاهی، در بازار عرضه کرد یا وارد چرخه استفاده نمود.

¹ Specified Risk Material (SRM)

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

۲۸-۲- تفاوت‌های Raw material, Starting material و Ancillary Material

تفاوت دقیق بین Raw Material, Starting Material و Ancillary Material در تولید محصولات بیولوژیک که حتی در بسیاری از مقالات و پرونده‌های دارویی اشتباه گرفته می‌شوند. در تولید محصولات بیولوژیک، واکسن‌ها و محصولات بر پایه سلول/ژن سه اصطلاح بسیار مهم وجود دارد که اغلب با هم اشتباه گرفته می‌شوند: Raw Material, Starting Material و Ancillary Material. در اسناد رگولاتوری (ICH, EMA, FDA) تفاوت بین این سه اصطلاح اهمیت زیادی دارد، زیرا سطح کنترل کیفی، الزامات GMP و نحوه گزارش در CTD برای هر کدام متفاوت است.

۱. **Raw Material (ماده اولیه):** هر ماده‌ای که در هر مرحله از فرآیند تولید استفاده می‌شود و می‌تواند در تولید، پردازش یا تشکیل ماده فعال یا محصول نهایی نقش داشته باشد. به عبارت ساده‌تر تمام موادی که در فرآیند تولید وارد می‌شوند را شامل می‌شود. از ویژگی‌های اصلی این مواد این است که این مواد در مراحل مختلف تولید استفاده می‌شوند، و ممکن است در محصول نهایی باقی بمانند یا حذف شوند و بنابراین باید به طور دقیق کنترل کیفیت شوند. از نمونه‌های معروف این مواد در کشت سلول می‌توان به مواردی از قبیل آمینواسیدها (Amino acids)، گلوکز (Glucose)، نمک‌ها (Salts)، بافرها (Buffers)، محیط کشت (Media powder)، سرم (Serum)، آلبومین سرم گاوی (BSA)، و آنزیم‌ها (Enzymes)، اشاره نمود. بنابراین Raw Material یک اصطلاح کلی و گسترده است. بنابراین این مواد به عنوان یک اصطلاح کلی در نظر گرفته شده و همه مواد مورد استفاده در تولید را شامل می‌شوند و از منظر نظارتی و رگولاتوری سطح کنترل متوسطی برایشان در نظر گرفته می‌شود (سطح Risk assessment متوسط).

۲. **Starting Material (ماده آغازین):** طبق تعریف رگولاتوری، ماده آغازین، ماده‌ای است که تولید Active Substance از آن آغاز می‌شود. به بیان ساده‌تر، این ماده نقطه شروع ساخت ماده فعال دارویی (API) بوده و به همین دلیل، کنترل رگولاتوری آن بسیار سخت‌تر از Raw Materials است. از ویژگی‌های ماده آغازین این است که مستقیماً در تشکیل Active Substance دخیل بوده، و باید کاملاً مشخص و ردیابی پذیر باشد و کنترل‌های GMP بسیار سخت‌گیرانه ای دارد. از نمونه‌های معروف آن در بیوتکتولوژی می‌توان به مواردی از قبیل بانک‌های سلولی اصلی (MCB)، و پای کار (WCB)، DNA های پلاسمیدی (Plasmid DNA)، (Virus seed) سیدهای ویروسی مورد استفاده در تولید واکسن (Master seed for vaccines) و نمونه‌های بافتی (Tissue samples) در محصولات سلولی اشاره نمود. در بسیاری از فرآیندهای بیولوژیک، Cell Bank مهم‌ترین Starting Material قلمداد می‌شود. بنابراین این مواد، نقطه شروع ساخت ماده فعال بوده و کنترل رگولاتوری بسیار سخت‌گیرانه ای دارند و دارای اهمیت بالایی در پرونده جامع دارویی یا CTD فرآورده دارند.

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

۳. Ancillary Material (ماده کمکی فرآیند): این اصطلاح بیشتر در Cell Therapy و Gene Therapy استفاده می‌شود. طبق تعریف (USP 1043)، موادی که در فرآیند تولید استفاده می‌شوند اما بخشی از Active Substance نیستند و در محصول نهایی حضور ندارند یا مقدار آن ناچیز است، اما همچنان روی کیفیت، ایمنی و عملکرد محصول اثر دارند، به عنوان مواد کمکی (AM) قلمداد می‌گردند. از نمونه‌های معروف این مواد کمکی می‌توان به مواردی از قبیل سایتوکاین‌ها، فاکتورهای رشد، IL-2، تریپسین، آنزیم DNase، مکملهای سرم (Serum supplements)، و پوششهای ماتریکسی (Matrix coatings) مانند فیبرونکتین، و لامینین اشاره نمود. بنابراین این مواد به عنوان مواد کمکی فرآیند قلمداد شده و در محصول نهایی نیستند، اما روی کیفیت محصول اثر دارند.

۲۹-۲- ماده اولیه (Raw Materials) از منظر رگولاتوری:

در فرآیندهای سلولی و بیولوژیک این دو اصطلاح raw materials و ancillary materials، گاهی اشتباه گرفته می‌شوند؛ Raw Material، ماده‌ای که در تولید محصول یا ماده فعال نقش مستقیم دارد، در صورتیکه Ancillary Material (ماده جانبی)، ماده‌ای که فقط برای کمک به فرآیند (مثل رشد یا نگهداری سلول‌ها) استفاده می‌شود و معمولاً در محصول نهایی وجود ندارد. هر ماده‌ای که در فرآیند تولید یک ماده دارویی یا محصول زیستی استفاده می‌شود و ممکن است در تولید، پردازش یا تشکیل ماده فعال یا محصول نهایی نقش داشته باشد، ماده اولیه نامیده می‌شود. در تولید بیولوژیک، Raw materials شامل مواد مورد استفاده در مراحل مختلفی از قبیل تهیه محیط کشت، رشد و تکثیر سلول‌ها، بیان پروتئین، تخمیر (fermentation)، خالص‌سازی (purification)، و فرمولاسیون مورد استفاده می‌باشند. در تولید محصولات زیستی، موادی به شرح زیر معمولاً Raw Material محسوب می‌شوند:

- Cell culture media components
- Amino acids
- Glucose
- Salts
- Buffers
- Serum (مثل FBS یا Calf Serum)
- Bovine Serum Albumin (BSA)
- Growth factors
- Hormones
- Enzymes (مثل Trypsin)

برخی از این مواد ممکن است در برخی شرایط به عنوان Ancillary Material یا مواد کمکی نیز طبقه‌بندی شوند، بسته به این که آیا در محصول نهایی باقی می‌مانند و یا فقط در فرآیند استفاده می‌شوند، بین مواد اولیه و مواد کمکی تفاوت وجود دارد. مواد کمکی

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

در فرآیند تولید استفاده می‌شوند ولی معمولاً در محصول نهائی (final product) وجود ندارند. مواد اولیه مورد استفاده در تولید داروهای بیولوژیک باید تحت یک سیستم کنترل کیفی دقیق بوده و مراجع اصلی آن عبارتند از ICH Q7 – GMP for Active Pharmaceutical Ingredients, ICH Q5A – Viral Safety of Biotechnology Products, ICH Q5D – Cell Substrates, و ... کنترل کیفیت Raw Materials شامل موارد زیر است:

آزمون‌های هویتی (Identity): تأیید اینکه ماده همان ماده مورد نظر است.

خلوص (Purity): بررسی وجود ناخالصی‌ها یا آلودگی‌ها.

آزمون‌های فیزیکوشیمیایی: مانند pH، اسمولالیت، Solubility، Appearance.

آزمون‌های ایمنی زیستی، به‌خصوص برای مواد با منشأ حیوانی: از قبیل Sterility، Endotoxin، Mycoplasma، Adventitious viruses، و TSE/BSE risk.

برای هر Raw Material معمولاً اسناد زیر لازم است:

- Certificate of Analysis (CoA)
- Certificate of Origin (COO)
- Material Safety Data Sheet (MSDS)
- TSE/BSE declaration (در صورت منشأ حیوانی)
- Viral safety statement
- Supplier qualification records

۳- مقدمه:

۳-۱- استفاده از سرم جنین گاوی در محصولات سلولی برای کاربردهای بالینی

در صنعت بیوتکنولوژی و داروهای بیولوژیک یکی از بحث‌های مهم کنترل کیفیت، سرم مورد استفاده در فرآیند کشت سلول و تفاوت‌های مابین سرم (Serum)، سرم جنینی گاو (FBS)، سرم گوساله (Calf serum) و سرم گاوی بالغ (Adult Bovine Serum) از منظر رگولاتوری و کشت سلول است. در کشت سلول و تولید محصولات بیولوژیک، انواع مختلف سرم‌های حیوانی استفاده می‌شوند

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

که از مهم‌ترین آن‌ها عبارتند از سرم جنینی گاوی (FBS)^۱، سرم گاوی بالغ (ABS)^۲، و سرم گوساله (CS)^۳. در همین راستا، در تولید داروهای بیولوژیک استفاده از سرم‌ها یک ریسک مهم ایمنی زیستی محسوب می‌شود و ریسک‌های اصلی آن عبارتند از احتمال آلودگی به ویروس‌های حیوانی، آلودگی میکوپلاسمایی، آلودگی به پریون‌ها (BSE/TSE) و تنوع در لاتهای تولیدی (Batch variability). به همین دلیل در صنعت مدرن بیوتکنولوژی و داروهای نوین زیستی (بیولوژیک)، تمایل به استفاده از محیط‌های کشت عاری از سرم (Serum-free media)، محیط‌های کشت فاقد اجزاء حیوانی (Animal component-free media)، و استفاده از پروتئین‌های نوترکیب (Recombinant proteins) در محیط‌های کشت سلولی بیشتر می‌باشد.

۲-۳- سرم جنینی گاو (FBS):

سرم جنینی گاوی، سرمی است که از خون جنین گاو (bovine fetus) که در کشتارگاه‌ها از گاوهای باردار به‌دست می‌آید استخراج می‌شود. از ویژگی‌های بیولوژیکی FBS این است که این سرم بالاترین کیفیت برای کشت سلول را دارا بوده و دارای مقادیر زیادی از فاکتورهای رشد^۴، سطح پایین آنتی‌بادی، سطح پایین کمپلمان، و دارای مهارکننده‌های رشد اندک می‌باشد. به همین دلیل FBS بهترین سرم برای کشت سلول‌های پستانداران، تولید آنتی‌بادی، تولید واکسن، و انجام تحقیقات حوزه سلولی به شمار می‌آید. از ترکیبات اصلی آن می‌توان به مواردی از قبیل آلبومین (Albumin)، فاکتورهای رشد (Growth Factors, GF)، هورمون‌ها (Hormones)، فاکتورهای پروتئینی اتصال و چسبندگی (Attachment factors)، لیپیدها (Lipids)، ویتامین‌ها (Vitamins)، و عناصر کمیاب و نادر (Trace elements)، اشاره نمود. از منظر رگولاتوری به دلیل منشأ حیوانی سرم جنینی گاو، باید تست‌ها و آزمون‌های احراز ایمنی زیستی از قبیل آزمون‌های استرلیتی (Sterility)، تست میکوپلازما (Mycoplasma)، تست سنجش اندوتوکسین (Endotoxin assay)، آزمون ارزیابی ویروس‌های ناخواسته و آلودگی‌های ویروسی (Adventitious Viruses)، و ارزیابی خطر انسفالوپاتی‌های اسفنجی قابل انتقال (TSE) / خطر جنون گاوی (BSE)، انجام شود. در همین راستا، کشور مبدأ^۵ تولید سرم جنینی گاوی نیز بسیار مهم است.

سرم به عنوان یکی از مواد خام (Raw Materials) به کار رفته در طی فرآیند تولید و فرآوری فرآورده‌های بیولوژیک و نظر به اهمیت استفاده با گرید بالینی آن، همواره یکی از ضروری‌ترین مواد تغذیه‌ای در کشت سلول‌های بنیادی و سایر سلول‌ها است. این

¹ Fetal Bovine Serum (FBS)

² Adult Bovine Serum

³ Calf Serum

⁴ Growth factors

⁵ Country of Origin

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

نوع سرم تحت استانداردهای بالینی و GMP می‌بایست فرآوری و تولید شود تا برای استفاده در محصولات زیستی سلول، سلول درمانی شخصی‌سازی شده (Autologous/Allogeneic)، و کارآزمایی‌های بالینی مناسب باشد.

به دلیل دسترسی گسترده و سهولت نگهداری و ذخیره‌سازی آسان، افزودن و استفاده از سرم حیوانات^۱ به محیط‌های کشت سلولی به عنوان مکمل محیط کشت سلولی به یک امری رایج تبدیل شده است. سرم جنین گاوی (FBS)^۲ از گاوهای اهداء کننده^۳ تأمین و تهیه می‌شود و بخشی از پلاسما است که بعد از انعقاد طبیعی خون باقی می‌ماند. FBS سرشار از عوامل محرک رشد و هورمون‌هایی است که در فعالیت‌های تحریک رشد و تکثیر سلولی خود به صورت هم‌افزا^۴ عمل می‌کنند. در عین حال، نشان داده شده است که در مقایسه با سایر سرم‌های حیوانی، سطح آنتی‌بادی‌ها و گاماگلوبولین پائینی دارد، که منجر به استفاده گسترده از FBS به عنوان مکمل اصلی محیط کشت در تولید محصولات تحقیقاتی و درمان‌های سلولی برای کاربردهای بالینی شده است. تولید سرم تحت شرایط بسیار کنترل شده‌ای انجام می‌شود و کنترل دقیق هر مرحله برای کاربردهای بالینی می‌بایست حفظ شده و مورد دقت قرار گیرد. با اینحال، استفاده از FBS در تولید محصولات سلول درمانی برای کاربردهای بالینی در چندسال گذشته مورد انتقاد و دقت قرار گرفته است. بر طبق گزارشات و آمار، هنوز پروتکل‌های کشت سلولی عاری از عوامل بیگانه^۵ در درمان‌های بالینی بر پایه سلول درمانی جامعیت نیافته و گذار به پروتکل‌های فاقد زئون (xeno-free) با کندی پیش می‌رود، به طوریکه، بیش از ۸۰ درصد از پرونده‌ها و موارد ارسالی به سازمان غذا و داروی آمریکا (FDA)، استفاده از FBS را در طول فرآیند تولید فرآورده‌های درمانی سلولی برای مصرف بالینی توصیف می‌کنند.

برای اولین بار ایگل (Eagle) نشان داد که محیط‌های کشت غنی شده با سرم حیوانات قادرند سلول‌های با منشأ اخذ پستانداران را در کشت طولانی مدت با موفقیت حفظ و تکثیر نمایند، به طوریکه حذف آن منجر به مرگ زود هنگام سلول‌های در محیط کشت می‌شود. تکنیک‌های کشت سلولی از زمان پژوهش‌های هنری ایگل در سال ۱۹۵۵ تاکنون تا حد زیادی بدون تغییر باقی مانده‌اند. ایگل در مقاله سال ۱۹۵۵ خود، مجموعه مطالعاتی را که او را به شناسایی شیمیایی نیازهای تغذیه‌ای اختصاصی لازم برای حمایت از رشد دو رده سلولی پستانداران - یکی سلول‌های فیبروبلاست موشی و دیگری سلول‌های کارسینوم انسانی - هدایت کرده بود، جمع‌بندی نمود و نشان داد که حذف حتی یک ماده مغذی ضروری از ترکیب محیط، منجر به مرگ زود هنگام سلول‌های کشت داده شده در محیط کشت‌های سلولی می‌شود. پیش از مطالعات پیشگامانه ایگل، رشد سلول‌های پستانداران در شرایط آزمایشگاهی (in vitro) با استفاده از قطعات بافتی (اکسپلنت‌ها)^۶، یک ماتریکس زیستی نظیر لخته پلاسما یا فیبرینوژن که سلول‌های در حال رشد به آن متصل

^۱ Animal sera

^۲ Fetal Bovine serum (FBS)

^۳ Donor cattle

^۴ Synergism effect

^۵ Xeno-free products

^۶ Explants

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

می‌شدند، و یک محیط مایع متشکل از سرم جفت انسانی^۱ یا سرم بالغ، عصاره جنین مرغ^۲ و یک محلول نمکی متعادل^۳ پشتیبانی می‌شد. معمولاً چنین ترکیبی^۴، تنها برای مدت زمان متغییری قادر به حفظ رشد سلولی بود و پس از آن، کشت سلولی از بین می‌رفت.

بررسی‌های دقیق ایگل منجر به شناسایی "محیط حداقل ضروری (Minimum Essential Medium; MEM)"^۵ شد که شامل ترکیبی از ۲۷ جزء مشتمل بر ۱۳ اسید آمینه، ۷ ویتامین، گلوکز، ۶ نمک، کوفاکتورها و کربوهیدرات‌ها بود که همگی برای پشتیبانی از رشد سلولی ضروری بودند. حذف هر یک از این ۲۷ مؤلفه موجب بروز اثرات سیتوپاتیک^۶ می‌شد که در مراحل اولیه با جایگزینی جزء حذف‌شده قابل برگشت بود. با این حال، در صورت عدم جایگزینی آن مؤلفه موجود در سرم، فقدان آن منجر به دژنراسیون^۷ و مرگ سلول‌ها در محیط کشت می‌گردید. محیطی که ایگل با آن کار می‌کرد با سرم اسب دیالیزشده^۸ مکمل می‌شد؛ مکملی که برای حمایت از رشد سلول‌های پستانداران-که تصور می‌شد نیازهای مشابهی برای رشد در شرایط آزمایشگاهی (in vitro) دارند- ضروری بود.

بیشتر محیط‌های پایه کشت سلولی، حتی در صورت مکمل‌سازی، به‌تنهایی قادر به حمایت از رشد سلول‌های پستانداران نیستند. مشخص شده است که سلول‌های یوکاریوتی برای تکثیر در شرایط in vitro به یک مکمل زیستی با ترکیب نسبتاً نامشخص از مایعات و عصاره‌های بیولوژیک نیاز دارند. این ترکیبات معمولاً در سرم‌های حیوانی و/یا انسانی یافت می‌شوند. به دلیل دسترسی گسترده و سهولت نگهداری، افزودن سرم حیوانی به محیط‌های کشت سلولی به یک رویه رایج تبدیل شده است. در کشت سلول‌های پستانداران، مکمل‌های سرمی معمولاً به‌صورت سرم جنین گاوی (Fetal Bovine Serum; FBS) تأمین می‌شوند که توانایی حمایت از رشد طیف وسیعی از انواع سلولی را دارد. FBS به‌دلیل دارا بودن مقادیر بالای فاکتورهای محرک رشد و هورمون‌هایی که به‌صورت هم‌افزا در فعالیت‌های تحریک رشد و تکثیر خود عمل می‌کنند، و همچنین به سبب سطوح پایین تر آنتی‌بادی‌ها و گاماگلوبولین نسبت به سایر سرم‌های حیوانی، به‌طور گسترده به‌عنوان مکمل اصلی محیط در تولید محصولات تحقیقاتی و درمان‌های سلولی برای کاربردهای بالینی مورد استفاده قرار گرفته است.

¹ Placental serum
² Chicken embryonic extract
³ Balanced salt solution
⁴ Cocktail

⁵ Minimum Essential Medium; MEM
⁶ Cytopathic effects
⁷ Cellular degeneration
⁸ Dialyzed horse serum

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

سرم جنین گاوی (FBS) بخشی از پلاسما است که پس از انعقاد طبیعی خون باقی می‌ماند؛ در طی این فرآیند، پروتئین پلاسما یعنی فیبرینوژن به فیبرین تبدیل شده و لخته‌ای تشکیل می‌شود که معمولاً از طریق سانتریفیوژ حذف می‌گردد. اگرچه فرآیند تولید سرم ممکن است در نگاه نخست ساده به نظر برسد، اما در عمل تحت شرایط بسیار دقیق و به‌شدت کنترل‌شده انجام می‌شود. تولید سرم طی سال‌ها با دقت فراوان توسعه یافته و مستلزم استفاده از تأسیسات و تجهیزات پیشرفته است و با آزمون‌های گسترده حین فرآیند (in-process) و بر روی محصول نهایی^۱ همراه می‌باشد. کنترل فرآیند و آزمون‌های کیفی^۲، به‌ویژه در مورد FBS مورد استفاده در تولید فرآورده‌های زیستی (biologics)، از سخت‌گیری ویژه‌ای برخوردار است.

با وجود آن‌که تولید FBS به تدریج به یک فرآیند استاندارد شده با سطح بالایی از یکنواختی تبدیل شده و محصول نهایی از نظر طیف وسیعی از ویروس‌های اتفاقی (adventitious viruses) برای تضمین ایمنی مورد آزمون قرار می‌گیرد، همچنان مسائل اساسی حل‌نشده‌ای باقی مانده است. نخست آن‌که در صورت تجاری‌سازی فرآورده‌های مختلف درمان سلولی که در فرآیند تولید خود از FBS استفاده می‌کنند، باید به مسئله عرضه و تقاضا^۳ توجه شود؛ زیرا بعید به نظر می‌رسد تولید فعلی FBS بتواند پاسخگوی نیاز بازار باشد. دوم آن‌که استفاده از پروتئین‌های زئون (بیگانه‌گونه)^۴ در تولید محصولات سلولی با کاربرد بالینی همچنان با خطر بالقوه آلودگی به عوامل بیماری‌زای غیرانسانی مانند پریون‌ها^۵، ویروس‌ها و مایکوپلازماها^۶ همراه است، و نیز ممکن است در دوره بلافاصله پس از پیوند، موجب القای پاسخ ایمنی ناخواسته بدن میزبان علیه پروتئین‌های زئون گردد.

چندین جایگزین برای FBS- از جمله آلبومین سرم انسانی^۷ (HSA)، سرم انسانی^۸ (HS)، سرم اتولوگ^۹، و محیط‌های کشت فاقد سرم^{۱۰}- مورد بررسی قرار گرفته و نشان داده شده است که برای کشت و تکثیر سلولی خارج از بدن (ex vivo) در برخی از فرآورده‌های درمان سلولی، اثربخشی مشابه یا حتی بالاتری دارند. با این حال، علی‌رغم پیشرفت‌های قابل توجه در توسعه تکنیک‌های کشت سلولی، از جمله طراحی محیط‌های فاقد سرم و فاقد پروتئین که امروزه به‌طور معمول برای حمایت از رشد سلول‌های پستانداران استفاده می‌شوند، محیط‌های مکمل‌شده با FBS همچنان در صدر کاربردهای بالینی بوده و به‌طور گسترده مورد استفاده قرار می‌گیرند.

¹ Final product testing

² Quality tests

³ Supply and demand need

⁴ Xenogeneic proteins

⁵ Prions

⁶ Mycoplasmas

⁷ Human serum albumin

⁸ Human serum

⁹ Autologous serum

¹⁰ Serum-free media

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

در کشت سلولی، انتخاب سرم مناسب برای موفقیت آزمایشات بسیار حائز اهمیت است. سرم گاوی، که از بخش مایع خون گاوهای اهلی^۱ گرفته می‌شود، مواد مغذی ضروری، فاکتورهای رشد و پروتئین‌های لازم برای زنده‌مانی، رشد و نمو سلول‌ها در شرایط آزمایشگاهی (in vitro) را فراهم می‌کند. این جزء حیاتی در محیط کشت سلولی است که سرشار از هورمون‌ها، لیپیدها و فاکتورهای رشد است. سرم گاوی یک محصول جانبی صنعت گوشت بوده که در طول کشتار گاو جمع آوری می‌شود. خون مورد استفاده برای ایجاد این سرم می‌تواند از مراحل مختلف زندگی گاو تهیه شود و در نتیجه انواع مختلفی از سرم گاو تعریف می‌شود.

۳-۳- سرم گوساله (Calf serum):

سرم گوساله؛ سرمی است که از خون گوساله‌های جوان (معمولاً کمتر از شش ماه سن، سن چند هفته تا چند ماه) بدست آمده و استحصال می‌شود و به دلیل داشتن مقادیر بالای فاکتورهای رشد، پروتئین‌ها و مواد مغذی سلولی، در محیط‌های کشت سلولی، تولید فرآورده‌های زیستی، و پژوهش‌های بیوتکنولوژی به‌طور گسترده استفاده می‌شود. سرم گوساله در مقایسه با FBS، فاکتور رشد (GF) کمتر، پروتئین و ایمونوگلوبولین بیشتر و بنابراین تغییرپذیری بیشتری را در بین بچ‌ها (لات‌ها، lots) نشان می‌دهد (batch-to batch variation).

از دیدگاه علمی و رگولاتوری، سرم گوساله نسبت به سرم گاوی بالغ (ABS)، فعالیت بیولوژیکی بیشتر و سمیت کمتر داشته و به دلیل منشأ حیوانی، تحت نظارت‌های سختگیرانه برای عوامل قابل انتقال (Adventitious Agents) مانند ویروس‌ها و عوامل BSE/TSE قرار دارد. ترکیبات اصلی آن شامل آلبومین، گلوبولین‌ها، فاکتورهای رشد، هورمون‌ها، لیپیدها، و مواد معدنی می‌شود و در فرایندهای صنعتی، سرم‌های فیلترشده و استانداردشده بر اساس معیارهای کیفیت و ردیابی منبع استفاده می‌شوند. در سال‌های اخیر، به دلیل نگرانی‌های ایمنی و پایداری منابع حیوانی، گرایش به استفاده از سرم‌های آنالوگ یا جایگزین‌های مصنوعی (serum-free / animal component-free media) افزایش یافته است.

۳-۴- سرم گاوی بالغ (ABS)^۲

سرم گاوی بالغ، سرمی است که از خون گاوهای بالغ استخراج می‌شود. از ویژگی‌های آن این است که در مقایسه با FBS، Growth factors بسیار کمتر، آنتی‌بادی‌ها و کمپلمان بیشتر داشته و ممکن است اثر مهار بر رشد و تکثیر برخی سلول‌ها و رده‌های سلولی

¹ Domestic cattle

² Adult Bovine Serum

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

داشته باشد. معمولاً این سرم در انجام برخی از تست‌های آزمایشگاهی، استفاده در محیط‌های کشت خاص، و در استفاده‌های تحقیقاتی کاربرد داشته و برای بسیاری از رده‌های سلولی (لایه‌های سلولی) حساس مناسب نیست.

Fetal Bovine Serum (FBS) با اینکه یکی از بهترین مکمل‌ها برای رشد سلول‌های پستانداران در کشت سلولی است، در تولید محصولات بیولوژیک یک چالش مهم رگولاتوری محسوب می‌شود. دلیل آن این است که FBS یک ماده با منشأ حیوانی و ترکیب بسیار پیچیده است و می‌تواند ریسک‌های ایمنی و کیفی ایجاد کند. از دلایلی که FBS کماکان یک چالش رگولاتوری است، می‌توان به موارد زیر اشاره کرد.

۱-۴-۳- خطر آلودگی با عوامل بیماری‌زا:

FBS ممکن است حامل عوامل عفونی باشد که به آن‌ها Adventitious agents گفته می‌شود، که عبارتند از؛ ویروس‌های گاوی (Bovine viruses)، مایکوپلاسما (Mycoplasma)، باکتری‌ها یا قارچ‌ها، پریون‌ها (عامل بیماری‌های TSE/BSE). اگر این عوامل وارد خط تولید شوند می‌توانند کل دسته تولیدی (batch) را آلوده کنند.

۲-۴-۳- خطر TSE/BSE:

سرم گاوی از بافت حیوانی به دست می‌آید و بنابراین احتمال بسیاری برای انتقال Transmissible Spongiform Encephalopathy (TSE) وجود دارد، مانند BSE (Bovine Spongiform Encephalopathy) یا همان جنون گاوی. به همین دلیل رگولاتورها روی کشور مبدأ دام بسیار حساس هستند.

۳-۴-۳- تغییرپذیری بین بچ‌ها (Batch-to-Batch Variability):

ترکیب FBS ثابت نیست و به عوامل مختلفی بستگی دارد که عبارتند از؛ سن جنین، شرایط تغذیه دام، شرایط جغرافیایی، فرآیند جمع‌آوری و پردازش. این موضوع باعث می‌شود که عملکرد سلول‌ها تغییر کند، بازده تولید بیولوژیک متفاوت شود، و reproducibility فرآیند کاهش یابد؛ که در تولید دارویی یک مشکل جدی قلمداد می‌گردد.

۴-۴-۳- ترکیب نامشخص:

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

FBS شامل صدها مولکول مختلف است که عبارتند از؛ پروتئین‌ها، هورمون‌ها، فاکتورهای رشد، لیپیدها، و متابولیت‌ها؛ اما در عین حال، هنوز ترکیب دقیق آن کاملاً مشخص نشده است. این موضوع با اصول Quality by Design (QbD) و کنترل دقیق فرآیند در صنعت داروسازی تا حدی در تضاد است.

۵-۴-۳- مسائل اخلاقی و تأمین:

تولید FBS به جنین گاو وابسته است و بنابراین مسائل نگرانی‌های اخلاقی یا ethical concerns وجود دارد که تأمین پایدار آن را دشوار نموده و در نتیجه قیمت آن بالا و متغیر می‌کند.

با توجه به موارد فوق، شرکت‌ها این ریسک و خطرات را به طرق مختلف مدیریت می‌کنند که عبارتند از:

(الف) کنترل منبع سرم: شرکت‌ها فقط از تأمین‌کنندگان تأیید شده استفاده می‌کنند و مدارک اعتبارسنجی متعددی از قبیل گواهی مبدأ (Certificate of Origin (COO)، گواهی آنالیز (Certificate of Analysis (CoA)، اهار نامه عدم آلودگی به TSE/BSE (TSE/BSE statement)، و مستندات ایمنی ویروسی (Viral safety documentation)، را دریافت می‌کنند.

(ب) انتخاب کشور مبدأ کم‌خطر: FBS معمولاً از کشورهایی مانند استرالیا، نیوزیلند، و برخی کشورهای آمریکای جنوبی تهیه می‌شود که ریسک BSE بسیار پایین دارند،

(ج) انجام تست‌های ایمنی: هر بچ FBS معمولاً تحت آزمایش‌های از قبیل آزمون‌های احراز ایمنی زیستی مانند آزمون‌های استرلیتی (Sterility)، تست میکوپلاسما (Mycoplasma)، تست سنجش اندوتوکسین (Endotoxin assay)، آزمون ارزیابی ویروس-های ناخواسته و آلودگی‌های ویروسی (Adventitious Viruses)، و ارزیابی خطر انسفالوپاتی‌های اسفنجی قابل انتقال (TSE) / خطر جنون گاوی (BSE)، قرار می‌گیرند و ایمنی آن احراز شود.

(د) استفاده از بچ‌های بزرگ و تست عملکرد: شرکت‌ها معمولاً قبل از استفاده، تجمع بچ‌های بزرگ سرم^۱ (تجمع چند بچ در یک بچ بزرگ) به منظور کاهش تغییر پذیری بین بچ‌ها، و تست عملکرد کشت سلول^۲، به منظور ارزیابی رشد، زنده‌مانی و تکثیر سلول‌ها به دنبال استفاده از سرم‌های جنینی گاوی انجام می‌دهند تا مطمئن شوند که سرم روی رشد سلول اثر منفی ندارد.

حرکت به سمت محیط‌های بدون سرم: مهم‌ترین راهکار صنعتی این است که استفاده از سرم حذف شود. بنابراین بسیاری از شرکت‌ها از محیط‌های بدون سرم^۳، محیط‌های عاری از جزء حیوانی^۴، محیط‌های کشت تعیین هویت شده از لحاظ ترکیب شیمیایی^۵، و محیط‌های حاوی فاکتورهای رشد نو ترکیب^۶، استفاده می‌کنند.

¹ Large batch pooling

² Cell culture performance test

³ Serum-free media

⁴ Animal component-free media

⁵ Chemically defined media

⁶ Recombinant growth factors

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

این تمهیدات، ریسک آلودگی را کاهش می‌دهد کنترل فرآیند را بهتر می‌کند، و پذیرش رگولاتوری را آسان‌تر می‌کند.

۳-۵- محیط‌های کشت عاری از سرم (Serum-Free Media (SFM))

محیط کشت عاری از سرم، محیطی گفته می‌شود که هیچ سرمی (FBS, Calf, ABS و...) به آن اضافه نشده است. اما می‌تواند شامل ترکیباتی از قبیل پروتئین‌های حیوانی (مثلاً آلبومین گاوی BSA)، فاکتورهای رشد حیوانی، هیدرولیزات‌های حیوانی یا گیاهی، و پروتئین‌های مشتق از بافت‌های جانوری باشد. از مزایای این محیط‌ها، حذف ریسک‌های اصلی سرم (ویروس، مایکوپلاسما، پریون)، کنترل بهتر مسیر رشد سلول، واکنش‌پذیری کمتر نسبت به تغییرپذیری بین دسته‌های سرم (batch-to-batch variability) است.

۳-۶- محیط‌های عاری از جزء حیوانی (Animal-Component-Free Media (ACF))

ایم محیط‌ها هیچ جزء مشتق از حیوانات خشکی‌زی در آن وجود ندارد، به طوریکه، تمام اجزای آن از منابع گیاهی، منابع میکروبی، منابع سنتتیک، و منابع نو ترکیب تهیه شده‌اند. ACF به معنی بدون پروتئین حیوانی است اما ممکن است شامل پروتئین‌های نو ترکیب بیان‌شده در باکتری، مخمر یا گیاه، اسیدهای آمینه و ویتامین‌هایی که به روش شیمیایی سنتز شده‌اند، باشد. اما در هین حال از محدودیت آن برای برخی سلول‌ها، نیاز به سازش و adaptation طولانی است.

۳-۷- محیط‌های با هویت معین ترکیبات شیمیایی (Chemically Defined Media (CDM))

این محیط‌ها، محیطی کشتی هستند که تمام اجزا با فرمول شیمیایی مشخص و شناخته‌شده در آن حضور دارند. به عبارتی، در این محیط‌ها هیچ پروتئین، هیدرولیزات، عصاره، یا جزء پیچیده وجود ندارد و هر جزء دارای ساختار شیمیایی معلوم و مقدار دقیق است. اما در عین حال از محدودیت‌های این محیط‌ها، توسعه و optimization دشوار آنها و همچنین عدم رشد همه رده‌های سلولی با فوریت در محیط‌های با CDM است.

۳-۸- دسته‌بندی سرم گاوی:

سرم گاوی بر اساس سن حیوانی که از آن خون گرفته می‌شود، طبقه‌بندی می‌شود.

(Definitions of Bovine Serum Types. International Serum Industry Association):

۱- سرم جنین گاوی (FBS)، که از جنین‌های گاو متولد نشده^۱ گرفته شده و اخذ می‌گردد.

^۱ Fetuses

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

- ۲- سرم گوساله تازه متولد شده^۱: سرم گوساله تازه متولد شده که از گوساله‌هایی که چهارده روز یا کمتر سن دارند، تهیه می‌شود (در برخی از گزارشها گفته شده است که سرم گوساله تازه متولد شده، از گوساله‌های کمتر از ۲۰ روز تهیه می‌شود).
- ۳- سرم گوساله (نوزاد) گاوی^۲، از گوساله‌هایی که شش ماه یا کمتر سن دارند، تهیه می‌شود (در برخی از مطالعات گوساله‌های با سن بین ۲۰ روز تا ۱۲ ماه اشاره شده است).
- ۴- سرم گاو بالغ^۳، از گاوهایی تهیه می‌شود که دوازده ماه یا بیشتر سن دارند (گوساله‌های بالای ۱۲ ماه سن).

سرم گاوی اهدایی^۴، را می‌توان از گله گاوهایی که ۱۲ ماه یا بیشتر سن دارند، تهیه کرد؛ به طوریکه گاوهای دهنده سرم در یک گله خاص و کنترل شده صرفاً برای اهداء خون^۵ پرورش داده می‌شوند. سرم جنین گاوی (FBS^۶) که با نام سرم جنین گوساله (FCS^۷) نیز شناخته می‌شود، به طور گسترده‌ای به عنوان مکمل محیط رشد پایه در کاربردهای کشت سلولی توسط محققان دانشگاهی و همچنین به طور صنعتی مورد استفاده قرار می‌گیرد؛ به طوریکه به عنوان پرکاربردترین مکمل سرم برای کشت سلولی آزمایشگاهی (برای سلولهای یوکاریوتی) قلمداد می‌گردد. این سرم منبع غنی از پروتئین‌ها و فاکتورهای رشد است که از رشد سلول در محیط کشت سلولی پشتیبانی می‌کند. سرم، بخش کهربایی رنگ^۸ خون است که پس از انعقاد طبیعی خون باقی مانده و معمولاً از طریق سانتریفیوژ پالایش می‌شوند، به طوریکه از بقیه سلولهای خونی ته نشین شده، فیبرینوژن‌های انعقادی و پروتئینهای با حلالیت کم جدا می‌شود. سرم جنین گاوی از خون جنین گاو گرفته می‌شود که این فرآیند از طریق یک سیستم جمع‌آوری بسته^۹ صورت می‌گیرد (۱، ۲).

بین انواع سرم گاوی تفاوت‌هایی وجود دارد.

همه سرم‌های گاوی یکسان نیستند به طوریکه سطح فاکتورهای رشد، پروتئین‌ها و آنتی‌بادی‌ها در انواع مختلف آنها متفاوت بوده و در نتیجه کاربردهای متفاوتی را برای آنها رقم می‌زنند.

مشخصات کلیدی (Key Characteristics)	منبع اخذ سرم (Source)	نوع سرم گاوی (Types of Bovine Serum)
محتوای بالای فاکتور رشد: FBS سرشار از فاکتورهای رشد است که منجر به رشد و تکثیر مؤثر سلولی می‌شود.	خون جنین‌های گاو متولد نشده	سرم جنینی گاوی (Fetal bovine serum: FBS)

¹ Newborn calf serum
² Bovine calf serum
³ Adult bovine serum
⁴ Donor bovine serum
⁵ Blood donation

⁶ Fetal Bovine Serum (FBS)
⁷ Fetal Calf Serum (FCS)
⁸ Amber-colored
⁹ Closed system

سازمان غذا و دارو

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

سطح پائین آنتی‌بادی: از آنجائیکه سیستم ایمنی جنین به طور کامل توسعه نیافته است، FBS سطح پائین‌تری از آنتی‌بادی‌ها را دارا بوده و خطر واکنش‌های ایمنی در کشت‌های سلولی را کاهش می‌دهد. تطبیق‌پذیری^۱ با دامنه استفاده وسیع: FBS به طور گسترده-ای در انواع مختلف سلول‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد و استاندارد طلایی^۲ در کشت سلولی محسوب می‌گردد.			
محتوای متوسط فاکتورهای رشد: سرم گوساله تازه متولد شده حاوی سطح مناسبی از فاکتورهای رشد است (کمتر از مقادیر موجود در FBS). افزایش سطح آنتی‌بادی: از آنجائیکه سیستم ایمنی گوساله‌ها شروع به رشد و تکوین کرده است، سرم آنها در مقایسه با FBS حاوی سطوح بالاتری از آنتی‌بادی است. کاربردهای خاص^۳: این نوع سرم ممکن است در کشت‌های سلولی تخصصی یا در مواردی که FBS مورد نیاز نباشد، استفاده شود.		گوساله‌هایی که کمتر از ۲۰ روز سن دارند.	سرم گوساله تازه متولد شده (Newborn calf serum)
محتوای فاکتور رشد کمتر: سطح فاکتور رشد در سرم گوساله کمتر از FBS است که منجر به رشد و تکثیر مؤثر سلولی کمتری نسبت به FBS می‌شود. سطوح بالاتر آنتی‌بادی: با افزایش سن گوساله‌ها، سیستم ایمنی آنها آنتی‌بادی‌های بیشتری تولید می‌کند که در سرم خون آنها ترشح خواهند شد. استفاده انتخابی^۴: سرم گوساله در کاربردهای کشت سلولی که نیاز به محتوای بالایی از فاکتورهای رشد FBS ندارند، یا در مواردی که پروتئین‌ها یا آنتی‌بادی‌های خاصی از سرم مورد نیاز است استفاده می‌شود.		گوساله‌های با سن بین ۲۰ روز تا ۱۲ ماه	سرم گوساله (Calf Serum)

^۱ Versatility

^۲ Gold standard

^۳ Specific Applications:

^۴ Selective Use

سازمان غذا و دارو

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

محتوای کم فاکتورهای رشد: سرم گاو بالغ در مقایسه با FBS به طور قابل توجهی سطوح پائین‌تری از فاکتورهای رشد را دارا می‌باشد و در تحریک رشد و تکثیر سلولی کمتر مؤثر است. سطح بالای آنتی‌بادی: سیستم ایمنی گاوهای بالغ کاملاً توسعه یافته است و در نتیجه سطح بالاتری از آنتی‌بادی در سرم وجود دارد. کاربرد تخصصی^۱: سرم گاو بالغ کمتر در کشت عمومی استفاده می‌شود، اما در عین حال در کاربردهای خاص که وجود آنتی-بادی‌ها یا پروتئین‌های خاص مفید است، به کار می‌رود.	گاوهای بالای ۱۲ ماه سن	سرم گاو بالغ (Adult Bovine Serum)
--	------------------------	--------------------------------------

FBS پرکاربردترین سرم است.

سرم جنینی گاو (FBS)، به دلیل محتوای بالای فاکتور رشد و سطح پائین آنتی‌بادی، محبوب‌ترین سرم در کشت سلولی است که استفاده از آن را برای طیف وسیعی از انواع سلول‌ها مناسب است. FBS از خون جنین‌های گاو به دست می‌آیند که تنها زمانی در دسترس قرار می‌گیرند که بخشی از گاوهای ماده که برای گوشت ذبح می‌شوند، به طور غیر منتظره باردار باشند. در اصل جنین-ها (fetuses) محصولات جانبی^۲ صنعت گوشت هستند و خون آنها برای تولید سرم جمع‌آوری می‌شود، به طوریکه چیزی در حدود بیش از ۲ میلیون جنین گاو در سراسر جهان برای تولید تقریباً ۸۰۰۰۰۰ لیتر FBS استفاده می‌شود.

ترکیب و محتوای سرم FBS تحت تأثیر رژیم غذایی و محیط پیرامونی گاوهای باردار بوده و شامل فاکتورهای رشد، هورمون‌ها، پروتئین‌ها، و مواد معدنی است که برای رشد، تکثیر، حفظ چسبندگی^۳ و تمایز سلولی بسیار مهم هستند. با اینحال، با افزایش تقاضا برای FBS و محدود شدن روزافزون دسترسی به آن، هزینه FBS در طول سال‌ها به طور پیوسته افزایش یافته است. این کمبود دسترسی، محققان و صنایع را بر آن داشته است تا جایگزین‌های، از جمله انواع دیگر سرم گاو، به منظور استفاده در آزمایشات کشت سلول مورد بررسی قرار گیرند. علیرغم این تلاش‌ها، ذکر این نکته ضروری است که همه انواع سرم گاو برای هر رده سلولی مناسب نیستند. بنابراین آزمایش دقیق سرم‌های جایگزین بر روی رده‌های سلولی خاص برای ارزیابی اثرات آنها بر رشد و فنوتیپ بسیار مهم است. به عنوان مثال گفته شده است که سرم گوساله (newborn calf serum) ممکن است جایگزین مؤثری برای FBS هسنگام کشت رده های سلولی سر و گردن نباشد.

FBS در مقابل BSA

¹ Specialized Use
² By-product

³ Adhesion

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

FBS تهیه شده از جنین گاو، حاوی بیش از ۱۰۰۰ جزء مانند فاکتورهای رشد، هورمون‌ها و پروتئینهای ناقل است که هنگام افزودن به محیط کشت، به رشد سلولها کمک می‌کند. در مقابل آلبومین سرم گاوی (BSA^۱)، یک پروتئین واحد است که از سرم گاوی خالص‌سازی شده است. BSA جزء اصلی FBS است و در عین حالی که هر دو می‌توانند به عنوان مکمل‌های ارزشمندی برای محیط کشت سلولی عمل کنند، هر کدام کاربردهای منحصر به فرد دیگری در تحقیق و توسعه علوم زیستی دارند.

۹-۳- ترکیب سرم جنین گاوی

سرم جنین گاوی یک سیستم کشت غنی را فراهم می‌کند که طیف وسیعی از انواع سلول‌ها، از جمله رده‌های سلولی و سلولهای اولیه را پشتیبانی می‌کند. فاکتورهای رشد و سطوح بسیار پائین آنتی‌بادی‌ها در FBA، تنوع و تطبیق پذیری^۲ این سرم را تسهیل می‌کند (۳).

۱۰-۳- ترکیبات موجود در سرم جنین گاوی:

FBS حاوی بیش از ۱۰۰۰ ترکیب مختلف است؛ عوامل رشد و اتصال سلول‌ها، لیپیدها، هورمون‌ها، مواد مغذی و منابع انرژی لازم برای رشد (مانند ویتامین‌ها و قندها، ...)، الکترولیت‌ها، حامل‌ها (carriers)، آنزیم‌ها، عوامل تأمین کننده ظرفیت بافری/محافظت در برابر تغییرات pH، پروتئازها، و سموم (toxins)، پروتئینهای اتصال دهنده (binding) و انتقال دهنده (transfer proteins).

۱۱-۳- نگهداری^۳ و جابجایی FBS:

به عنوان یک ماده بیولوژیکی، FBS باید با دقت مراقبت و به طور مناسب نگهداری گردد تا از تخریب آن جلوگیری به عمل آید. مؤثرترین روش نگهداری، منجمد نگه داشتن سرم‌هاست^۴. FBS می‌بایست در دمای کمتر و مساوی با ۱۰- درجه سانتیگراد نگهداری شود و در دمای مابین ۲ تا ۸ درجه سانتیگراد ذوب گردد. برای جلوگیری از تخریب و فساد، می‌بایست در شرایط ثابت نگهداری و حمل شود. از آنجائیکه سرم می‌تواند برای مدت طولانی ذخیره شود، محققان و تولید کنندگان اغلب از یک سری (لات، lot) سرم برای چند سال استفاده می‌کنند. با این حال، از آنجائیکه FBS از نظر شیمیایی تعریف نشده است، زمان تجدید موجودی، سعی می‌شود سری مشابهی با همان مشخصات محصول خریداری شده قبلی تهیه شود.

^۱ Bovine serum albumin (BSA)

^۲ Versatility

^۳ FBS storage

^۴ Sera frozen

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

۱۲-۳- ملاحظات ویژه در خصوص فرآورده‌های متداول مشتق شده از انسان با کاربرد استفاده در کشت سلول

۱۲-۳-۱- لیزات پلاکت انسانی (HPL)^۱

لیزات پلاکت انسانی (HPL) فاز محلول ایزوله شده از پلاکت‌های لیز شده^۲ است و می‌تواند توسط تولیدکنندگان به عنوان مکمل محیط کشت جهت جایگزینی سرم به کار رود. منابع اهدایی برای HPL شامل پلاکت‌های دارای مجوز منقضي شده^۳، خون کامل^۴، پلاسما غنی از پلاکت^۵، و پلاکت‌های آفرزیسیس^۶ یا پلاکت‌های گردآوری شده به روش آفرزیسیس^۷ می‌باشد. HPL از طریق چرخه‌های مکرر انجماد-ذوب^۸، سونیکاسیون^۹، یا با اعمال فعال‌کننده‌های پلاکتی^{۱۰} نظیر ترومبین^{۱۱} یا کلرید کلسیم^{۱۲} تهیه می‌شود. در نتیجه این لیز سلولی، مقادیر زیادی از فاکتورهای رشد (GF)^{۱۳} آزاد می‌شود که نقش تروفیک و تکثیری بر روی سلولهای کشت داده شده برای مصارف تجاری و در شرایط GMP دارند. PL به دلیل دارا بودن فاکتورهای رشد، نقش مهمی در حفظ رشد، تکثیر و زنده‌مانی سلولهای انسانی در شرایط GMP دارند و بر خلاف FBS (که دارای منشأ زئون هستند)، از خون انسان تهیه می‌شوند. در صورت استفاده، PL، به عنوان مکمل کشت سلولی مشتق از پلاکت‌های انسانی، می‌بایست با تابش اشعه گاما استریل شده و از دهنده‌گان انسانی سالم و از مراکز انتقال خون دارای مجوز از سازمان غذا و دارو اخذ و جمع‌آوری گردند.

چنانچه از HPL استفاده می‌شود، توصیه می‌گردد اطلاعات زیر ارائه گردد:

- اگر از پلاکت‌ها به عنوان ماده اولیه^{۱۴} برای تولید HPL استفاده شود، باید مستند گردد که آیا از واحدهای پلاکت منقضي شده یا منقضي نشده استفاده شده است یا خیر، زیرا پایداری^{۱۵} فاکتورهای رشد مرتبط با پلاکت^{۱۶} ممکن است تحت تأثیر مدت زمان نگهداری^{۱۷} قرار گیرد. باید معیارهای پذیرش برای پلاکت‌های منقضي شده (مانند مدت نگهداری^{۱۸}، حداقل سطوح یک فاکتور رشد خاص و غیره) را توصیف گردد.

¹ Human Platelet Lysate (HPL)

² disrupted platelets

³ expired licensed platelets

⁴ whole blood

⁵ Platelet-rich plasma

⁶ Apheresis platelets

⁷ Platelets collected by apheresis

⁸ Freeze-thawing cycles

⁹ Sonication

¹⁰ Platelet activators

¹¹ Thrombin

¹² Calcium chloride

¹³ Growth factor (GF)

¹⁴ Starting material

¹⁵ Stability

¹⁶ Platelet-associated growth factors

¹⁷ Length of storage

¹⁸ Length of storage

سازمان غذا و دارو

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

- باید مستنداتی ارائه دهید مبنی بر اینکه ماده اولیه اهدایی در یک مرکز خون ثبت شده و مورد تأیید نهاد نظارتی و مطابق با الزامات رگولاتوری (مانند بخش C ذیل بخش ۶۴۰ از عنوان ۲۱ CFR سازمان غذا و داروی آمریکا)^۱ گردآوری شده است، و همچنین اطمینان حاصل نمایید که پلاکت‌ها طبق مقررات مذکور، جمع‌آوری^۲، پردازش^۳ و آزمون شده‌اند.

"بخش ۶۴۰ از عنوان ۲۱ آیین‌نامه فدرال ایالات متحده (۲۱ CFR Part 640)"، مجموعه‌ای از مقررات قانونی است که توسط سازمان غذا و داروی آمریکا (FDA) وضع شده و استانداردهای لازم برای فرآورده‌های خونی و اجزای خون را تعیین می‌کند. این بخش به طور خاص به تولید، پردازش و تست محصولات خونی انسانی می‌پردازد. هدف اصلی آن اطمینان از ایمنی، خلوص و اثربخشی خون و فرآورده‌های خونی است که برای تزریق به بیماران استفاده می‌شود. "زیربخش C" بخش ۶۴۰ از عنوان ۲۱ آیین‌نامه، بر پلاکت‌ها (Platelets) تمرکز دارد. این بخش، الزامات فنی و بهداشتی دقیقی را برای جمع‌آوری، نگهداری و تست پلاکت‌ها تعیین می‌کند. مواردی مانند دمای نگهداری پلاکت‌ها، هم‌زمانی و شیکینگ مداوم و کنترل شده کیسه پلاکت (Agitation) در طول نگهداری، به منظور حفظ زنده مانی و کارآمدی سلول‌ها و استانداردهای آلودگی‌زدایی در این بخش آمده است. در زمینه تولید "لیزات پلاکت انسانی" (HPL)، رعایت این مقررات بسیار حیاتی است، زیرا، تضمین می‌کند که پلاکت‌های استفاده شده از اهداکنندگانی گرفته شده‌اند که از نظر بیماری‌های خونی (مانند HIV و هپاتیت) screened شده‌اند (احراز ایمنی و ویروسی)؛ و تضمین می‌کند که پلاکت‌ها طبق استانداردهای مشخصی پردازش شده‌اند تا فاکتورهای رشد آن‌ها تخریب نشده باشند (کیفیت).

Agitation: پلاکت‌ها سلول‌هایی هستند که در پلاسما شناور هستند. اگر پلاکت‌ها در یک کیسه خون در سکون مطلق رها شوند، به دلیل وزن خود به سمت پایین ته‌نشین می‌شوند (Sedimentation). این ته‌نشینی باعث می‌شود پلاکت‌ها روی هم انباشته شوند و به هم بچسبند. در زمینه نگهداری پلاکت‌ها هم‌زمانی (Agitation) (به معنای "تکان دادن مداوم" یا "هم‌زدن" مایع) حائز اهمیت است. برای جلوگیری از این چسبندگی و تجمع، کیسه‌های پلاکت باید به طور مداوم در دستگاه‌های مخصوصی (معمولاً به صورت نرم و آرام) تکان داده شوند یا بچرخند. این عمل باعث می‌شود پلاکت‌ها همیشه در حال حرکت باشند و در پلاسما معلق بمانند. اگر هم‌زمانی (Agitation) انجام نشود، پلاکت‌ها فعال می‌شوند و شروع به لخته شدن (Clotting) می‌کنند. عملکرد آن‌ها از بین می‌رود و برای تزریق به بیمار نامناسب می‌شوند. خصوصاً در تولید HPL، کیفیت فاکتورهای رشد موجود در پلاکت کاهش می‌یابد.

¹ 21 CFR part 640: 21 Code of Federal Regulations part 640
(CFR Part 640 بخش ۶۴۰ از عنوان ۲۱ آیین‌نامه فدرال ایالات متحده (۲۱)
(FDA مجموعه‌ای از مقررات قانونی است که توسط سازمان غذا و داروی آمریکا)
وضع شده و استانداردهای لازم برای فرآورده‌های خونی و اجزای خون را تعیین
می‌کند. این بخش به طور خاص به تولید، پردازش و تست محصولات خونی انسانی

می‌پردازد. هدف اصلی آن اطمینان از ایمنی، خلوص و اثربخشی خون و فرآورده‌های
خونی است که برای تزریق به بیماران استفاده می‌شود.

² collected

³ processed

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

- باید اطلاعاتی در مورد نحوه نگهداری ماده اولیه اهدایی شامل شود.

- برای رفع نگرانی‌های احتمالی در مورد آلودگی متقاطع (Cross-contamination)، باید روش‌های استفاده شده برای تهیه HPL را توصیف شود، اطلاعاتی در مورد هرگونه مواد یا تجهیزات^۱ دخیل در تولید آن ارائه دهید و محل (Facility) مورد استفاده را مشخص گردد.

۲-۱۲-۳- سرم انسانی (HS)^۲

سرم انسانی، مانند سرم AB^۳، معمولاً از پلاسما، پلاسمای منبع (Source Plasma) یا خون کامل (WB)^۴ به دست می‌آید. در درخواست برای ثبت داروی جدید تحقیقاتی (IND)^۵، می‌بایست روش‌ها و فرآیندهای آزمایشات، جمع‌آوری^۶ و پردازش^۷ خون کامل یا پلاسما توصیف و شرح داده شود. توصیه می‌شود مستنداتی ارائه شود مبنی بر اینکه فرآیندهای جمع‌آوری خون کامل یا پلاسما، آزمایش و پردازش، در یک مرکز خون ثبت‌شده مورد تأیید سازمان غذا و دارو ایران (IFDA)^۸ و سازمان انتقال خون و سایر دستورالعمل‌های منطبق بر سایر نهادهای نظارتی و با رعایت کامل با بخش ۶۰۶ عنوان ۲۱ CFR^۹ و زیربخش‌های A، D یا G از بخش ۶۴۰ عنوان ۲۱ CFR^{۱۰} انجام شده است.

تولیدکنندگان "پلاسمای منبع (Source plasma)" ملزم به انجام آزمایش‌های غربالگری^{۱۱} برای برخی بیماری‌های عفونی منتقله از طریق خون (RTTI)^{۱۲}، از قبیل ویروس لیμφوتروپیک انسانی (HTLV)^{۱۳}، ویروس وست نیل (WNV)^{۱۴}، بیماری چاگاس^{۱۵} و بابسیوزیس^{۱۶}، نیستند (مطابق ماده ۶۱۰،۴۰ بخش ۲۱ مقررات فدرال آمریکا^{۱۷}). با این حال، نمونه‌های "پلاسمای منبع" مطابق با ماده ۶۴۰،۶۵ (ب) بخش ۲۱ مقررات فدرال آمریکا (CFR 640.65(b) ۲۱) برای تشخیص عفونت سیفلیس مورد آزمایش قرار می‌گیرند. اگر سرم انسانی گروه خونی AB از پلاسما یا خون کامل تهیه شود، انجام آزمون جدید برای ویروس زیکا^{۱۸} در خون انسانی و مواد تشکیل‌دهنده خون از جمله پلاسما و سرم- دیگر الزامی نیست. این مقررات بر اساس آخرین به‌روزرسانی‌های نهادهای نظارتی و با توجه به کاهش قابل توجه ریسک انتقال ویروس زیکا در مناطق خطر، اعمال شده است. با این حال، حفظ استانداردهای کلی ایمنی خون و فرآورده‌های خونی- از جمله آزمون‌های ضروری برای عوامل بیماری‌زای دیگر (مانند HIV، هپاتیت B و C، و تب چک)- همچنان بدون تغییر باقی می‌ماند (۴).

¹ Equipment

² Human serum

³ AB serum

⁴ Whole blood

⁵ Investigational New Drug (IND)

⁶ Collection

⁷ Processing procedure

⁸ IFDA-registered blood establishment

⁹ 21 CFR part 606

¹⁰ 21 CFR part 640

¹¹ Test donations

¹² Relevant transfusion-transmitted infections (RTTI)

¹³ Human T-lymphotropic virus, HTLV

¹⁴ West Nile virus (WNV)

¹⁵ Chagas disease

¹⁶ Babesiosis

¹⁷ 21 CFR 610.40

¹⁸ Zika virus

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

پلاسمای منبع (Source Plasma) اخذ شده با آفرزیس دارای الزامات آزمایشی منحصربه‌فردی است، زیرا مقصود از آن استفاده در تولید بیشتر محصولات بیولوژیک مشتق شده از پلاسما است که با استفاده از رویه‌های اعتبارسنجی شده غیرفعال‌سازی/حذف ویروس^۱، نظیر کروماتوگرافی ستونی^۲، تیمار با دترجنت (Detergent treatment) یا غیرفعال‌سازی حرارتی گسترده^۳، تولید می‌شوند. فرآیندهای ساخت سرم AB انسانی معمولاً شامل چنین مراحل تولیدی نمی‌باشد. بنابراین، پلاسمای منبع (Source Plasma) به عنوان ماده اولیه‌ی مناسب (Starting material) برای تولید سرم AB انسانی در نظر گرفته نمی‌شود، مگر اینکه مستندات ا ارائه گردد مبنی بر اینکه پلاسمای منبع (Source Plasma) با استفاده از آزمون‌های غربالگری (تست‌های آزمایشگاهی که بر روی خون یا پلاسمای افراد اهداکننده انجام می‌شود) دارای مجوز، تأیید شده یا مجوز دار FDA^۴ یا سایر نهادهای نظارتی برای بیماری‌های عفونی منتقله از طریق خون (RTTI)^۵، از قبیل ویروس لیمفوتروپیک انسانی (HTLV)^۶، ویروس وست نیل (WNV)^۷، بیماری چاگاس^۸ و بابسوزیس^۹، مورد ارزیابی قرار گرفته است تا با الزامات^{۱۰} سایر اجزای خون، مطابق با بخش ۶۱۰،۴۰ از عنوان ۲۱ CFR، انطباق داشته باشد.

باید تمامی مراحل فرآیند تولید سرم AB انسانی به دقت مستند گردد؛ از جمله هرگونه عملیات پردازش بر روی ماده اولیه اهدایی^{۱۱}، مراحل فیبرین‌زدایی^{۱۲} (در صورت کاربرد)، و همچنین شرایط غیرفعال‌سازی حرارتی (مدت زمان و دما) و تابش (نوع تابش و دوز تابش بر حسب کیلوگری^{۱۳})، در صورت اعمال. چنانچه در طول فرآیند تولید از ترومبین گاوی^{۱۴} استفاده شده است، باید مستندات مبنی بر ایمنی آن ارائه گردد. این ایمنی (Safety) می‌تواند از طریق مستندات که فقدان (Freedom) عوامل ناخواسته گاوی^{۱۵} را در ترومبین گاوی اثبات می‌کنند، پشتیبانی شود.

توضیحات:

سرم AB:

سرم (AB Serum) نوعی از سرم انسانی است که از خون افرادی که گروه خونی آن‌ها AB است، تهیه می‌شود. این محصول در آزمایشگاه‌های کشت سلول و پژوهش‌های biomedical کاربردهای ویژه‌ای دارد. سرم AB ویژگیها و دلایل اهمیت متعددی دارند:

۱. فاکتورهای ایمنی (بدون آنتی‌بادی)

¹ Inactivation/removal procedures

² Column chromatography

³ Extensive heat inactivation

⁴ FDA-licensed, approved, or cleared donor screening tests

در اصطلاح سازمان غذا و داروی آمریکا (FDA)، واژه Cleared به معنای آن است که دستگاه کیت تشخیصی یا آزمایش مورد نظر، فرآیند بررسی و تأییدیه ایمنی و اثربخشی را طی کرده و مجوز ورود به بازار را دریافت کرده است.

⁵ Relevant transfusion-transmitted infections (RTTI)

⁶ Human T-lymphotropic virus, HTLV

⁷ West Nile virus (WNV)

⁸ Chagas disease

⁹ Babesiosis

¹⁰ Requirements

¹¹ Donated source material

¹² Defibrination steps

¹³ kGy

¹⁴ Bovine thrombin

¹⁵ Bovine adventitious agents

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

مهم‌ترین ویژگی سرم AB این است که فاقد آنتی‌بادی‌های طبیعی علیه آنتی‌ژن‌های گروه خونی A و B است. در سیستم گروه خونی ABO، افراد دارای گروه خونی O دارای آنتی‌بادی‌های ضد A و ضد B هستند. افراد گروه خونی A دارای آنتی‌بادی ضد B بوده و افراد گروه خونی B دارای آنتی‌بادی ضد A هستند. اما افراد گروه خونی AB، به دلیل داشتن هر دو نوع آنتی‌ژن روی گلبول‌های قرمز خود، هیچ‌کدام از این آنتی‌بادی‌ها را در پلاسما خود ندارند.

اهمیت استفاده از سرم AB:

در کشت سلول، هدف اضافه کردن سرم، تأمین مواد مغذی و فاکتورهای رشد است. اگر از سرمی استفاده شود که حاوی آنتی‌بادی باشد (مثل سرم گروه O)، این آنتی‌بادی‌ها ممکن است به آنتی‌ژن‌های سطحی سلول‌های در حال کشت حمله کرده و باعث لیز (پاره شدن) یا آگلوتیناسیون (چسبیدن و تجمع) سلول‌ها شوند. از آنجا که سرم AB فاقد این آنتی‌بادی‌هاست، "ایمن‌ترین" نوع سرم برای استفاده در محیط‌های کشت سلولی است، به خصوص زمانی که گروه خونی اهداکننده با گیرنده (سلول‌ها) مطابقت ندارد. سرم AB انسانی یک جایگزین عالی برای FBS است، زیرا خطر انتقال بیماری‌های حیوانی (زئونوز) و واکنش‌های ایمنی را کاهش می‌دهد. این سرم معمولاً از پلاسمای خون کامل یا پلاسمای منبع (Source Plasma) اهداکنندگان با گروه خونی AB به دست می‌آید. فرآیند انعقاد خون برای جدا کردن سرم از پلاسما انجام می‌شود و سپس برای حذف عوامل بیماری‌زا و مکمل‌های ایمنی، معمولاً تحت فرآیندهایی مانند گاما-ایرادیشن یا حرارت‌دهی قرار می‌گیرد. از سرم AB در آزمایش‌های سلولی (به عنوان محیط کشت بدون آنتی‌بادی مهاجم)، تولید آنتی‌بادی‌های تخصصی، و مطالعات بیولوژیکی و دارویی که نیاز به سرم بدون واکنش علیه سلول‌های خونی دیگر دارند، استفاده می‌شود و کاربرد دارد.

۳-۱۲-۳- پلاسمای منبع (Source Plasma):

نوعی از پلاسمای خون انسان است که به طور خاص برای استفاده در ساخت داروهای بیولوژیک (فرآورده‌های خونی) جمع‌آوری می‌شود. ذکر چند نکته در این باره ضروری است:

۱. تفاوت با پلاسمای بازیافتی (Recovered Plasma):

- پلاسمای منبع:

از طریق فرآیندی به نام افزایش پلاسما (Plasmapheresis) مستقیماً از اهداکننده گرفته می‌شود. در این روش، خون اهداکننده خارج شده، پلاسما جدا شده و سلول‌های خونی (گلبول‌های قرمز و سفید و پلاکت‌ها) دوباره به بدن اهداکننده بازگردانده می‌شوند. این کار به اهداکننده اجازه می‌دهد دفعات بیشتری (تا دو بار در هفته) اهدا کند.

- پلاسمای بازیافتی:

پلاسمایی است که در حین اهدای خون کامل (Whole Blood Donation) جدا می‌شود. در این روش سلول‌های خونی به اهداکننده بازگردانده نمی‌شوند.

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

۲. کاربرد پلاسمای منبع:

پلاسمای منبع به عنوان ماده اولیه اصلی برای تولید داروهای مشتق از پلاسما (Plasma-Derived Therapies - PDTs) استفاده می‌شود. این داروها شامل موارد زیر هستند:

- ایمونوگلوبولین داخل وریدی (IVIG) برای درمان بیماری‌های ایمنی و نقص ایمنی.
- فاکتورهای انعقادی برای درمان هموفیلی.
- آلبومین انسانی برای درمان سوختگی‌های شدید و شوک.
- آنتی‌توکسین‌ها و آنتی‌بادی‌های خاص.

از آنجا که پلاسمای منبع وارد زنجیره تولید دارو می‌شود، تحت استانداردهای بسیار سخت‌گیرانه‌ای توسط سازمان‌های نظارتی (مانند FDA و EMA) قرار دارد. این شامل غربالگری دقیق اهداکنندگان برای بیماری‌های عفونی، تست‌های ویروسی و فرآیندهای تصفیه و ویروس‌زدایی در کارخانه‌های داروسازی است.

21 CFR part 606:

"بخش ۶۰۶ از عنوان ۲۱ آیین‌نامه فدرال ایالات متحده (21 CFR Part 606)" که با عنوان کامل "مقررات فعلی برای تولید خوب فرآورده‌های خونی و اجزای خون" (Current Good Manufacturing Practice for Blood and Blood Components) شناخته می‌شود، استاندارد اصلی و حیاتی تنظیم‌شده توسط سازمان غذا و داروی آمریکا (FDA) برای صنعت خون و فرآورده‌های بیولوژیک است. این بخش از قانون، الزامات دقیقی را برای تمامی مراحل جمع‌آوری، پردازش، تست، ذخیره‌سازی و توزیع خون کامل و اجزای آن (مانند پلاسما و پلاکت) تعیین می‌کند تا ایمنی، اثربخشی و کیفیت این محصولات برای بیماران تضمین گردد. در اصل این بخش از قوانین (Federal Regulations) FDA به استانداردهای تولید، جمع‌آوری، پردازش، ذخیره‌سازی، آزمایش و توزیع سرم انسانی، پلاسما و محصولات مشتق‌شده از خون می‌پردازد. این بخش شامل سرم انسانی (Human Serum)، پلاسما (Plasma)، فرآورده‌های مشتق‌شده از خون (Blood-Derived Products)، خون کامل (Whole Blood)، سلول‌های خونی (مثل گلبول‌های قرمز، پلاکت‌ها)، می‌شود.

مهم‌ترین محورهای این بخش عبارتند از:

۱. کنترل فرآیندها و سیستم‌ها (Process Controls):

این مقررات خواستار آن است که مراکز خون‌گیری و بانک‌های خون دارای دستورالعمل‌های عملیاتی استاندارد (SOP) دقیق باشند. تمامی مراحل، از نحوه گرفتن خون از اهداکننده تا جدا کردن اجزای خون، باید تحت کنترل دقیق و نظارت مستمر قرار گیرد.

سازمان غذا و دارو

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

۲. تست‌های اجباری (Testing Requirements):

طبق این بخش، تمامی واحدهای خون اهدایی باید تحت تست‌های دقیق آزمایشگاهی برای تشخیص عوامل بیماری‌زا قرار گیرند. این تست‌ها شامل موارد زیر است:

- HIV (ویروس نقص ایمنی انسانی)
- Hepatitis B and C (هپاتیت B و C)
- Syphilis (سیفلیس)
- HTLV (ویروس لنفوتروپیک سلول T انسانی)
- West Nile Virus (در موارد خاص)
- همچنین تعیین گروه خونی و تایپ صلیب (Crossmatch) برای جلوگیری از واکنش‌های ایمنی.

۳. برچسب‌گذاری و ردیابی (Labeling and Traceability):

قانون ۶۰۶ CFR الزام می‌کند که هر واحد خون دارای برچسب دقیق و خوانا باشد که شامل اطلاعات دقیق شامل نام محصول، حجم دقیق، گروه خونی، و Rh، تاریخ انقضا، دمای نگهداری، کد منحصربه‌فرد برای ردیابی کامل (از اهداکننده تا گیرنده) در صورت بروز عوارض باشد.

۴. نگهداری و حمل‌ونقل (Storage and Transportation):

این بخش دماهای مجاز برای نگهداری هر یک از اجزای خون را مشخص می‌کند (مثلاً گلبول‌های قرمز باید بین ۱ تا ۶ درجه سانتی‌گراد و پلاسما باید منفی ۱۸ درجه یا سردتر نگهداری شود). همچنین سیستم‌های هشداردهنده برای نظارت بر دما الزامی است.

۵. کنترل اهداکنندگان (Donor Suitability):

تعیین صلاحیت اهداکنندگان (از طریق پرسشنامه‌های سلامت و معاینات فیزیکی) برای اطمینان از اینکه خون اهدایی ایمن است و اهداکننده در معرض خطرات رفتاری یا بیماری‌های عفونی قرار ندارد.

۶. ثبت‌ها و مستندات (Records):

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

مراکز باید تمامی داده‌ها، از جمله سوابق اهداکنندگان، نتایج تست‌ها و شرایط نگهداری را برای مدت زمان مشخصی (معمولاً چندین سال) نگهداری کنند تا در صورت نیاز به بازرسی یا بررسی عوارض پس از انتقال، در دسترس باشند.

21 CFR part 640:

"بخش ۶۴۰ از عنوان ۲۱ آیین‌نامه فدرال ایالات متحده (۲۱ CFR Part 606)"، این بخش از آیین‌نامه فدرال آمریکا که با عنوان کامل "الزامات اضافی برای خون و فرآورده‌های خونی" (Additional Standards for Blood and Blood Components)، و به عنوان بخشی از قوانین آژانس غذا و داروی ایالات متحده (FDA) در مورد محصولات مشتق شده از خون (Blood and Blood Components) شناخته می‌شود، مقررات تخصصی و فنی را برای فرآورده‌های خاص تولید و پردازش فرآورده‌های خونی تنظیم می‌کند. **21 CFR part 640**، به عنوان بخشی از قوانین FDA به استانداردهای فنی، آزمایشی و کیفیتی برای سرم انسانی، پلاسما، خون کامل و سایر فرآورده‌های خونی که برای کاربردهای بالینی (مانند تزریق، ترانسفیوژن یا استفاده در آزمایشگاه) استفاده می‌شوند، می‌پردازد. هدف اصلی این قانون، تضمین کیفیت، ایمنی و اثربخشی فرآورده‌های خونی (از جمله سرم انسانی) قبل از استفاده در بیماران یا آزمایش‌های بالینی است.

در حالی که بخش ۶۰۶ (که قبلاً توضیح داده شد) بر قوانین عمومی تولید خوب (GMP) تمرکز دارد، بخش ۶۴۰ به الزامات علمی و عملیاتی خاص برای انواع مختلف فرآورده‌های خونی می‌پردازد. در این بخش، FDA استانداردهای دقیقی برای ویژگی‌های فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی سرم انسانی تعیین کرده است. برخی از مهم‌ترین معیارها عبارتند از:

- مقدار پروتئین کلی: که محدوده استاندارد آن، حداقل ۵ گرم در دسی لیتر (۵ g/dl) در سرم می‌باشد.
- مقدار آلبومین: که محدوده استاندارد آن، حداقل ۳/۵ گرم در دسی لیتر (۵ g/dl) در سرم می‌باشد.
- مقدار گلیکوپروتئین‌ها و آنزیم‌ها: باید در محدوده طبیعی باشد.
- عدم وجود آنتی‌بادی‌های بر ضد آنتی ژن: مثلاً آنتی‌بادی‌های ضد گروه خونی A یا B (در سرم AB، باید عدم وجود آنتی‌بادی A و B باشد — این یک ویژگی کلیدی گروه خونی AB است).
- عدم وجود عوامل عفونی

مهم‌ترین زیربخش‌های این "بخش ۶۴۰ از عنوان ۲۱ آیین‌نامه فدرال ایالات متحده (۲۱ CFR Part 606)" عبارتند از:
۶۴۰،۳۰ تا ۶۴۰،۱۰ (پلاسما): استانداردهای مربوط به پلاسمای تازه منجمد (Fresh Frozen Plasma - FFP) و پلاسمای فریز شده در عرض ۲۴ ساعت. این بخش الزاماتی را در مورد سرعت انجماد، مدت زمان نگهداری و نحوه ذوب کردن پلاسما تعیین می‌کند.

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

۶۴۰,۶۰ تا ۶۴۰,۴۰ (پلاکت): مقررات مربوط به غلظت‌های پلاکتی (Platelet Concentrates)، شرایط نگهداری (دمای ۲۰ تا ۲۴ درجه سانتی‌گراد با لرزش مداوم) و کنترل pH را تعیین می‌کند.

۶۴۰,۸۰ تا ۶۴۰,۱۰۰ (سرم و سرولوژی): این بخش الزاماتی را برای تولید، تست و توزیع سرم‌های مشتق شده از خون انسان تعیین می‌کند.

۶۴۰,۱۱۰ تا ۶۴۰,۱۳۰ (گلبول‌های قرمز): استانداردهای مربوط به گلبول‌های قرمز فریز شده و گلبول‌های قرمز فاقد گلبول‌های سفید (Leukoreduced)، را تعیین می‌کند.

همچنین در بخش ۶۴۰ عنوان CFR ۲۱ (مقررات فرآورده‌های خونی)، زیربخش‌های A، D و G نیز به شرح زیر تعریف می‌شوند:

- **زیربخش A (Subpart A):** پلاسما (Plasma) شامل استانداردها و مقررات مربوط به پلاسمای تازه منجمد (Fresh Frozen Plasma) و سایر فرآورده‌های پلاسمایی.
- **زیربخش D (Subpart D):** سرم و فرآورده‌های سرولوژیک (Serum and Serologic Products) این زیربخش مستقیماً به سرم خون انسانی (مانند سرم AB) و فرآورده‌های سرولوژیک می‌پردازد و استانداردهای تولید و تست آن‌ها را تعیین می‌کند.
- **زیربخش G (Subpart G):** گلبول‌های قرمز فریز شده (Frozen Red Blood Cells) شامل مقررات مربوط به فرآورده‌های انجماد، نگهداری و رفع انجماد گلبول‌های قرمز.

به طور کلی، بخش ۶۰۶ بر روی سیستم مدیریت، ساختمان و کنترل کیفیت کلی تمرکز دارد، اما بخش ۶۴۰ مشخص می‌کند که مثلاً پلاسما دقیقاً باید در چه دمایی و در چه بازه زمانی منجمد شود یا سرم AB باید چه تست‌های خاصی را برای ایمنی پاس کند.

21 CFR 610.40:

"بخش ۶۱۰,۴۰ از عنوان ۲۱ آیین‌نامه فدرال ایالات متحده (21 CFR 610.40)"، این مقررات تضمین می‌کند که خون و فرآورده‌های مشتق از آن از نظر انتقال بیماری‌های عفونی ایمن هستند.

21 CFR 610.40، تحت عنوان "آزمون عوامل بیماری‌زا در خون و فرآورده‌های خونی" (Testing for Infectious Agents in Blood and Blood Components)، یکی از مقررات کلیدی سازمان غذا و داروی آمریکا (FDA) است که الزامات آزمون‌های ضروری برای شناسایی عوامل بیماری‌زا در خون و فرآورده‌های خونی را تعیین می‌کند. این ماده به طور خاص برای حفاظت از سلامت گیرندگان خون و فرآورده‌های خونی طراحی شده است.

دامنه شمول:

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

اعمال این مقررات بر تمام خون و فرآورده‌های خونی (مانند گلبول قرمز متراکم، پلاسما، پلاکت، کرایوپرسیپیتات^۱) که برای انتقال مستقیم یا استفاده در تولید فرآورده‌های بیولوژیکی (مانند آلبومین، ایمونوگلوبولین) مورد استفاده قرار می‌گیرند و شامل واحدهای خون جمع‌آوری شده یا وارداتی می‌شود.

الزامات آزمون:

هر واحد خون/فرآورده خونی باید برای عوامل بیماری‌زای زیر آزمایش شود (آزمون‌ها باید با استفاده از کیت‌های تشخیصی تأیید شده توسط نهاد نظارتی انجام شوند)، واحدهای مثبت باید بلافاصله جدا شده و معدوم گردند:

- HIV-1 و HIV-2 (با آزمون‌های سرولوژی و PCR).
- هپاتیت B (HBV) (آزمون HBsAg و PCR).
- هپاتیت C (HCV) (آزمون آنتی‌باد و PCR).

طبق آخرین به‌روزرسانی FDA (سال ۲۰۲۱)، ویروس زیکا (Zika Virus)، دیگر الزامی نبوده مگر در موارد خاص (مانند اهداکنندگان با سفر به مناطق پرخطر). همچنین آزمون برای عوامل بیماری‌زای نوظهور (مانند چیکونگونیا یا دانگ) ممکن است در صورت نیاز اضافه شود. نتایج آزمون‌ها باید حداقل به مدت ۱۰ سال نگهداری شده و امکان ردیابی هر واحد خون از اهداکننده تا گیرنده باید فراهم باشد. همچنین، آزمون برای سایر عوامل بیماری‌زا (مانند HTLV، سیفلیس) بسته به شرایط ممکن است مورد نیاز باشد.

21 CFR 640.65b:

"بخش b ۶۴۰,۶۵ از عنوان ۲۱ آیین‌نامه فدرال ایالات متحده (21 CFR 640.65b)", تحت عنوان "نیازهای اضافی برای فرآورده‌های پلاسمای انسانی" (Additional Requirements for Human Plasma Products) بخشی از مقررات سازمان غذا و داروی ایالات متحده (FDA) است که به طور خاص الزامات ایمنی و کیفیت برای پلاسمای انسانی مورد استفاده در تولید فرآورده‌های بیولوژیکی را تعیین می‌کند. این ماده به عنوان مکمل مقررات عمومی (مانند CFR 610.4 ۲۱) عمل کرده و بر جنبه‌های خاص پلاسما تمرکز دارد. بنابراین این قانون برای تولیدکنندگان پلاسمای انسانی و فرآورده‌های مشتق از آن (مانند ایمونوگلوبولین‌ها، فاکتورهای انعقادی، آلبومین) الزامی است. این مقررات تضمین می‌کند که پلاسما از نظر ایمنی، خلوص و کیفیت برای استفاده در فرآورده‌های با کاربرد انسانی مناسب است.

¹ Cryoprecipitate

کرایوپرسیپیتات (Cryoprecipitate) یک فرآورده خونی مشتق از پلاسما است که به عنوان منبع غلیظ شده‌ای از فاکتورهای انعقادی، فیبرینوژن و سایر پروتئین‌های مهم در فرآیند انعقاد خون استفاده می‌شود. این فرآورده با انجماد و ذوب کنترل شده پلاسما تهیه

می‌شود تا پروتئین‌های نامحلول در سرما رسوب کنند. ترکیبات اصلی آن عبارتند از: فیبرینوژن، فاکتور VIII (Factor VIII)، فاکتور فون ویلبراند (vWF)، فاکتور XIII (Factor XIII)، فیبرونکتین (Fibronectin).

عنوان			راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک
شماره	GUI-DPNA-BIO-014	تاریخ شروع اجراء	۱۴۰۵/۰۳/۰۱
شماره بازنگری	00	تاریخ اعتبار	-

محتوای کلیدی ماده 640.65b:

منبع و جمع‌آوری پلاسما:

پلاسما باید از اهداکنندگان واجد شرایط مطابق با استانداردهای FDA (21 CFR 630) جمع‌آوری شده و تطابق با استانداردها و الزامات FDA ضروری است.

آزمون‌های ایمنی:

هر واحد پلاسما باید برای عوامل بیماری‌زای خاص (مانند HIV، هپاتیت B/C، Zika) مطابق با 21 CFR 610.40 آزمایش شود. آزمون‌های اضافی برای عفونت‌های نوظهور (مانند چیکونگونیا یا دانگ) در صورت نیاز ممکن است الزامی شود.

ذخیره‌سازی و حمل‌ونقل:

پلاسما باید در دمای مناسب (معمولاً ≤ -20 درجه سانتیگراد) نگهداری و حمل شود تا از تخریب پروتئین‌ها و رشد عوامل بیماری‌زا جلوگیری گردد. ثبت مداوم دما و نظارت بر زنجیره سرمایی (Cold Chain) الزامی است.

به طور کلی، در حوزه تفاوت بخش‌ها، آزمون CFR 610.4 شرایط عمومی برای تمام محصولات بیولوژیکی را احراز می‌نماید. آزمون، CFR 640.65b، مبنای الزامات اضافی برای پلاسمای انسانی است و آزمون CFR 610.40، تمرکز خاص بر آزمون عوامل بیماری‌زا در خون و فرآورده‌های خونی دارد.

۴-۱۲-۳- آلبومین سرم انسانی (HSA)^۱:

آلبومین سرم انسانی، یکی از فراوانترین پروتئینهای پلاسمای خون بوده و نیمی از پروتئینهای سرم را تشکیل می‌دهد. این پروتئین متشکل از ۵۸۵ اسید آمینه (حاوی مقادیر زیادی از اسیدهای آمینه لیزین، آرژنین، گلوتامیک اسید و آسپارتیک اسید)، با وزن مولکولی ۶۶،۵ کیلودالتون و به صورت پروتئین کروی محلول می‌باشد. این پروتئین در کبد به صورت پروآلبومین سنتز شده و در نهایت به صورت آلبومین نهایی ترشح می‌شود. آلبومین سرم انسانی منجر به افزایش پایداری سلول‌ها در طی فرآیند انجماد و ذوب می‌شود. به طور کلی، آلبومین سرم انسانی که به عنوان ماده کمکی و افزودنی (excipient) در محصولات سلول- و ژن‌درمانی (CGT)^۲ یا محصولات پزشکی مهندسی بافت (TEMP)^۳ استفاده می‌شود، باید تحت مجوز فعالیت در ایالات متحده آمریکا (U.S.-licensed) یا

^۱ Human Albumin Serum (HAS)

^۲ Cell and Gene therapy products

^۳ Tissue-Engineered Medical Product

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

درجه مطابقت با فارماکوپه آمریکا (USP)^۱ استفاده شود باشد، زیرا این ماده به صورت مستقیم به بیمار تزریق خواهد شد و استفاده از HSA مجوزدار^۲، تضمین‌کننده ایمنی و کیفیت محصول نهائی خواهد بود. در صورت تمایل به استفاده از نسخه‌ای از HSA مشتق از خون انسانی^۳ که در ایالات متحده آمریکا مجوز فعالیت یا توزیع ندارد، لازم است دلیل علمی و پروتکل مناسب (justification) برای این انتخاب ارائه شود. این دلیل باید شامل بررسی جامع ریسک‌های احتمالی- از جمله خطر انتقال عوامل بیماری‌زا، عدم سازگاری با فرآیند تولید، یا اختلال در پایداری و عملکرد محصول- و اقدامات لازم به منظور مدیریت این ریسک‌ها باشد. این امر به منظور تضمین ایمنی بیمار، کیفیت بالای محصول و انطباق با استانداردهای بین‌المللی در تولید محصولات حساس زیستی مانند CGT و TEMPs ضروری است.

ارائه اطلاعات کامل دربارهٔ آلبومین سرم انسانی مورد استفاده در هر مرحله از فرآیند تولید الزامی است. در صورت استفاده از آلبومین دارای مجوز (licensed albumin)، باید نوع محصول مجاز (licensed product) مورد استفاده، مشخص شود و همچنین لازم است نسخهٔ کامل برگه دستورالعمل بسته‌بندی (بروشور داخل بسته بندی) (package insert) آن ارائه شود. این اقدام به منظور تضمین شفافیت، ردیابی منبع مواد، و اطمینان از انطباق با استانداردهای ایمنی و کیفیت در تولید محصولات حساس زیستی - به ویژه محصولات بر پایهٔ ژن و سلول (CGT) و محصولات مهندسی بافت (TEMP) - ضروری است.

معمولاً به منظور محافظت سلولها در طی فرآیندهای انجماد و ذوب در فرمولاسیون محصول نهائی از غلظت HSA با غلظت ۱۰٪ استفاده می‌شود. گفته شده است که این پروتئین به عنوان افزودنی به محیط سلول منجر به تثبیت سلولی و محافظت از سلول^۴ می‌شوند. بنابراین آنالیز آن می‌بایست به طور دقیق صورت گرفته و در گزارش آنالیز آن می‌بایست آزمونهای از قبیل سنجش اندوتوکسین، استرلیتی، آلودگی به قارچ و مایکوپلاسما، اسمولالیتی، pH، پروتئین تام، آلودگی ویروسی (HIV، HCV، HBC و ...)، مورد بررسی قرار گیرد.

همچنین می‌بایست مواردی مانند شمارهٔ کاتالوگ^۵، لات نامبر^۶، تاریخ غیر فعال سازی حرارتی^۷، نوع غیر فعال سازی حرارتی^۸ (مثلاً غیر فعال سازی بطری‌های تکی^۹)، آزمایشات انجام شده بر روی محصول قبل از غیرفعال سازی حرارتی^{۱۰}، دمای غیرفعال سازی حرارتی^{۱۱} (۵۶±۲) درجهٔ سانتیگراد به مدت ۳۰ دقیقه، شمارهٔ کاتالوگ منبع اولیه^{۱۲}، شمارهٔ لات منبع اولیه^{۱۳}، تاریخ تولید لات منبع اولیه، تاریخ انقضاء^{۱۴}، کشور مبدأ مواد اولیه^{۱۵}، کشور محل پردازش نهائی فرآورده^{۱۶}، سطح تضمین استرلیتی^{۱۷} (به عنوان مثال، فیلتر سه گانه ۰.۱ میکرومتری^{۱۸})، و ذخیره سازی سرم (معمولاً ۱۰- تا ۴۰- درجهٔ سانتیگراد)، دقیق مشخص شده باشد.

¹ Pharmacopeia (USP)-grade

² Licensed HSA

³ Human blood-derived HSA

⁴ Cell protectant

⁵ Catalog Number

⁶ Lot Number

⁷ Heat Inactivation

⁸ Heat Inactivation Type

⁹ Individual Bottle Inactivation

¹⁰ Testing Performed on: Product Prior to Heat Inactivation

¹¹ Heat Inactivation Temperature:

¹² Parent Catalog Number

¹³ Parent Lot Number

¹⁴ Date of Expiration

¹⁵ Country of Raw Material Origin:

¹⁶ Country of Final Processing

¹⁷ Sterility Assurance Level

¹⁸ 10⁻³ (Triple 0.1 µm Filtered)

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

بررسی و کنترل کیفیت در حین تولید^۱ و بسته بندی نهائی از الزامات اصلی تولید این فرآورده است. آزمون‌های کنترل کیفیت در مطالعات مجزای بررسی ایمنی (safety)، اثربخشی (Efficacy) و کیفیت (Quality) می‌بایست صورت گیرد. و از اینرو، تمامی مراحل تولید آن، بررسی‌های ایمنی و استرلیتی، هویت^۲، اثربخشی، درجه خلوص^۳ و عملکرد سرم، می‌بایست توسط آزمونهای مختلف کنترل کیفیت به اثبات برسد.

به منظور بررسی استرلیتی، بر اساس دستورالعمل <71> USP عمل می‌شود. همچنین می‌بایست از نظر وجود هر گونه آلودگی اعم از باکتری (هوازی و غیر هوازی) و قارچ مورد بررسی قرار گیرد. همچنین وجود آلودگی میکوپلاسمایی در HSA نیز می‌بایست بر اساس دستورالعمل <63> USP با روشهای کشت و سنجش مولکولی بر پایه Real Time-PCR مورد ارزیابی قرار گیرد و عدم آلودگی به آنها محرز شود. همچنین از لحاظ آلودگی ویروسی، می‌بایست آلبومین سرم انسانی مورد استفاده با استفاده از تستهای ایمونواسی^۴ و سایر روشهای مولکولی مانند Real Time-PCR از نظر آلودگی به ویروسهایی از قبیل CMV، EBV، HCV، HBV، HIV، بر طبق دستورالعمل ICHQ3/ICHQ5A(R1) مورد بررسی و آزمون قرار گیرند.

۵-۱۲-۳- پروتئین‌های مشتق شده از انسان در محیط‌های کشت^۵

پروتئین‌های مشتق شده از خون انسان^۶ را می‌توان به محیط‌های کشت افزود. برای مثال، ترانسفرین^۷ یک پروتئین خونی است که به عنوان مکمل و افزودنی^۸ محیط کشت برای کاهش استرس اکسیداتیو از طریق کلاته کردن آهن^۹ مورد استفاده قرار می‌گیرد. این ماده اغلب به عنوان مکمل^{۱۰} به محیط‌های کشت سلولی "بدون سرم^{۱۱}"، "کم‌سرم^{۱۲}"، "فاقد زئو^{۱۳}" یا سایر محیط‌های کشت تقویت‌شده اضافه می‌شود. به عنوان مثال، اگرچه اشکال نو ترکیب ترانسفرین وجود دارد، اما فرمولاسیون‌های تجاری محیط کشت، اغلب حاوی ترانسفرین مشتق شده از پلاسمای انسان^{۱۴} هستند.

وجود پروتئین‌های مشتق شده از انسان در محیط کشت سلولی، مانند ترانسفرین یا آلبومین سرم انسانی (HSA)، ممکن است در گواهی آنالیز (COA) ارائه‌شده برای محیط کشت، به صورت فوری آشکار نباشد. از این رو، شما باید در اسناد ارسالی به FDA وجود پروتئین‌های مشتق شده از انسان در تمام محیط‌های مورد استفاده برای تولید محصولات CGT و TEMP را مستند نمایید. افزون بر

¹ In-Process Quality Control

² Identity

³ Purity

⁴ Immunoassay

⁵ Human-Derived Proteins in Culture Media

⁶ Human blood-derived proteins

⁷ Transferrin

⁸ Media additive

⁹ Chelating iron

¹⁰ Supplement

¹¹ Serum-free

¹² Serum-reduced

¹³ Xeno-free

¹⁴ Plasma-derived transferrin

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

این، باید اطلاعاتی ارائه گردد که انطباق با الزامات آزمون اهداکننده^۱ مندرج در بخش ۶۱۰،۴۰ عنوان ۲۱ CFR (21 CFR 610.40) و همچنین این موضوع را تأیید کند که ماده مشتق شده از انسان با استفاده از رویه‌هایی تولید شده است که برای پاکسازی یا غیرفعال‌سازی عوامل ناخواسته انسانی^۲، اعتبارسنجی شده‌اند. تولیدکنندگان محیط‌های کشت مورد استفاده در تولید محصولات CGT یا TEMP که مایلند اطلاعات محرمانه‌ای را در خصوص محیط خود به FDA ارائه دهند، باید یک پرونده اصلی دارویی نوع دوم (DMF - Type II Drug Master File) را به مرکز ارزیابی و تحقیقات زیستی (CBER)^۳ تسلیم نمایند. در صورت وجود پرونده اصلی (MF)^۴ برای یک ترکیب، "نامه مجوزی"^۵ که به ارجاع متقابل اطلاعات^۶ درون پرونده مذکور مجوز می‌دهد و توسط فردی که اطلاعات ارجاع‌شده را ارائه نموده است، امضا شده است، باید در پرونده "داروی جدید تحقیقاتی یا" IND^۷ گنجانده شود (بخش ۳۱۲،۲۳ (b) عنوان ۲۱ CFR)^۸.

۱۳-۳- تولید سرم جنین گاوی^۹

سرم گاوی محصول جانبی صنعت گوشت محسوب می‌شود. خون گاو می‌تواند در زمان کشتار از گاوهای بالغ^{۱۰}، گوساله‌ها^{۱۱}، گوساله‌های بسیار جوان یا جنین‌های گاوی^{۱۲} جمع‌آوری گردد. همچنین امکان تهیه خون از آنچه "حیوانات اهداکننده"^{۱۳} نامیده می‌شوند وجود دارد؛ حیواناتی که به‌منظور خون‌گیری مکرر پرورش داده می‌شوند. خون جنینی در دسترس است زیرا درصد اندکی از گاوهایی که برای تولید گوشت به کشتارگاه فرستاده می‌شوند، باردار هستند. صرف‌نظر از اینکه خون در زمان کشتار یا از حیوانات اهداکننده جمع‌آوری شود، سن حیوان عامل مهمی است، زیرا بر ویژگی‌های سرم حاصل تأثیر می‌گذارد.

جنین‌های گاوی که خون آن‌ها برای تولید FBS برداشت می‌شود، از گاوهای بارداری به‌دست می‌آیند که به دلایلی نظیر لنگش شدید و ناتوان‌کننده یا در جریان کشتار گله‌های گاو گوشتی که به طور گسترده نگهداری می‌شوند، به کشتارگاه ارسال شده‌اند. در اغلب موارد، خون جنین گاوی از طریق پونکسیون قلبی (cardiac puncture) و با استفاده از یک سیستم جمع‌آوری بسته برداشت می‌شود (خون جنین گاو از طریق یک سیستم جمع‌آوری بسته از طریق سوراخ کردن قلب جمع‌آوری می‌شود). مزیت این روش آن است که خطر آلودگی سرم با میکروارگانیسم‌های منشأگرفته از خود جنین یا محیط اطراف آن را به حداقل می‌رساند. با این حال،

¹ Donor testing requirements

² Human adventitious agents

³ Center for Biologics Evaluation and Research (CBER)

⁴ Master file

⁵ Letter of authorization

⁶ Cross-reference

⁷ Investigational New Drug (IND)

⁸ 21 CFR 312.23(b)

⁹ Fetal Bovine Serum Production

¹⁰ Adult cattle

¹¹ Calves

¹² Bovine fetuses

¹³ Donor animals

عنوان			راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک
شماره	GUI-DPNA-BIO-014	تاریخ شروع اجراء	۱۴۰۵/۰۳/۰۱
شماره بازنگری	00	تاریخ اعتبار	-

این روش دارای معایبی نیز هست. نخست آن که پونکسیون قلبی جنین بدون بیهوشی انجام می‌شود و این موضوع در سال‌های اخیر به یک بحث جدی اخلاقی تبدیل شده است. مطرح شده است که اگر جنین در حین این فرآیند هوشیار باشد، بدون تردید درد قابل توجهی را تجربه می‌کند. چنین رفتاری با حیوانات از دیدگاه حامیان رفاه حیوانات^۱ غیرقابل قبول تلقی می‌شود. دوم آن که پونکسیون قلبی مستلزم حضور کارکنان آموزش دیده تخصصی است که این امر مستلزم صرف هزینه از سوی تولیدکننده بوده و در نهایت هزینه آن به مصرف‌کننده منتقل می‌شود.

جنین‌ها معمولاً حداقل ۳ ماهه هستند، زیرا در سنین کمتر قلب برای انجام پونکسیون بسیار کوچک است. این روش با وارد کردن سوزن از میان دنده‌ها به‌طور مستقیم به قلب جنین بدون بیهوشی انجام می‌شود و خون از طریق لوله‌ای تحت خلأ به داخل کیسه استریل جمع‌آوری خون منتقل می‌گردد. در صورت نبود پمپ خلأ، خون جنینی ممکن است به کمک نیروی جاذبه یا ماساژ به‌دست آید. حجم سرم حاصل به اندازه و در نتیجه به سن جنین بستگی دارد. به‌طور متوسط، پس از انعقاد خون حدود ۵۰ درصد آن به‌صورت سرم باقی می‌ماند. یک جنین سه‌ماهه تقریباً ۱۵۰ میلی‌لیتر FBS تولید می‌کند؛ در شش‌ماهگی حدود ۳۵۰ میلی‌لیتر و در نه‌ماهگی (که به‌عنوان پایان دوره بارداری در نظر گرفته می‌شود) حدود ۵۵۰ میلی‌لیتر سرم به‌دست می‌آید. تولید جهانی FBS حدود ۵۰۰۰۰ لیتر برآورد شده است که به این معناست برای تأمین این میزان، تقریباً به یک میلیون جنین نیاز است؛ تقاضایی که همواره امکان تأمین آن وجود ندارد.

با توجه به این‌که محصول نهایی سرم جنین گاوی (FBS) قابلیت انجام استریلیزاسیون حرارتی نهایی را ندارد-زیرا چنین فرآیندی منجر به تخریب شماری از اجزای زیست‌فعال آن می‌شود- فرآیند به‌کاررفته برای تولید محصول نهایی تحت کنترل بسیار دقیق قرار داشته و به‌طور کامل و نظام‌مند مستندسازی می‌گردد. خون جنینی که به‌صورت آسپتیک جمع‌آوری شده است، بلافاصله پس از برداشت تا زمان تکمیل فرآیند انعقاد، تحت شرایط سرد نگهداری می‌شود. سپس خون سانتریفیوژ می‌گردد تا سرم از لخته خونی جدا شود و پس از آن سرم برداشت می‌شود.

سرم حاصل تا زمان ذوب شدن درست پیش از مراحل بعدی فرآوری، در ظروف تمیز^۲، بهداشتی و با شناسایی دقیق، به‌صورت منجمد نگهداری می‌شود؛ زیرا سرم- همانند بسیاری از مواد با منشأ زیستی- در صورت نگهداری نامناسب، به‌مرور زمان دچار افت کیفیت و

^۱ Animal welfare

^۲ Hygienic containers



سازمان غذا و دارو

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

تخریب می‌گردد. به‌منظور حفظ ویژگی‌های زیستی آن، سرم نهایی در حالت منجمد ذخیره و حمل‌ونقل می‌شود. در تمامی مراحل، دقت و مراقبت فراوانی به‌کار گرفته می‌شود تا اطمینان حاصل گردد که شرایط صحیح نگهداری و انتقال همواره رعایت می‌شوند.

مقدار از پیش‌تعیین‌شده‌ای از سرم^۱ به‌طور هم‌زمان فرآوری و آزمون می‌شود تا آنچه "بیج"^۲ یا "لات"^۳ محصول فرآوری‌شده^۴ نامیده می‌شود تشکیل گردد. هر لات سه بار از فیلتر ۰٫۱ میکرون عبور داده می‌شود؛ فرآیندی که اعتبارسنجی شده و توانایی حذف باکتری‌ها، قارچ‌ها و مایکوپلاسما را دارد. سرم به‌صورت آسپتیک در بطری‌های استریل پرتوده‌ی شده با گاما^۵، در یک اتاق تمیز کلاس ۱۰۰ مجهز به فیلتر HEPA^۶ توزیع می‌شود. بلافاصله پس از مرحله پرکنی^۷، FBS در دمای بین ۱۰- تا ۸۰- درجه سانتی‌گراد منجمد می‌شود^۸ تا کیفیت آن حفظ گردد. در صورتی که محصول مطابق دستورالعمل‌های تولیدکننده نگهداری شود، پایداری آن معمولاً تا پنج سال از تاریخ تولید تضمین می‌شود.

از آنجا که ویروس‌ها از طریق میکروفیلتراسیون حذف نمی‌شوند، FBS تحت پرتوده‌ی گاما قرار می‌گیرد؛ فرآیندی که موجب غیرفعال‌سازی ویروس‌ها می‌شود. پرتوده‌ی گاما با استفاده از فرآیندی اعتبارسنجی‌شده انجام می‌گیرد تا اطمینان حاصل شود که دوز صحیح اشعه گاما به‌صورت یکنواخت اعمال می‌شود. به‌عنوان بخشی از فرآیند آزادسازی بیج^۹، هر بیج FBS از نظر وجود عوامل اتفاقی و اکتسابی (adventitious agents) مورد آزمون قرار می‌گیرد تا اطمینان حاصل شود که عاری از ویروس‌های بالقوه آلاینده، از جمله- اما نه محدود به- ویروس اسهال ویروسی گاوی^{۱۰} (BVD)، رینوتراکئیت عفونی گاوی^{۱۱} (IBR) و پارائنفلوآنزای نوع ۳^{۱۲} (PI3) است.

علاوه بر این، هر لات FBS از نظر استریلیتی (یعنی عدم وجود میکروارگانیسم‌های هوازی و بی‌هوازی^{۱۳})، میزان مایکوپلاسما^{۱۴}، سطح اندوتوکسین^{۱۵}، غلظت هموگلوبین و IgG^{۱۶} و سایر ترکیبات، مطابق با الزامات مندرج در ۲۱ CFR بخش‌های ۲۱۰ و ۲۱۱^{۱۷} مورد آزمون قرار می‌گیرد. همچنین معمولاً برای ارزیابی توان زیستی (potency)، آزمون کشت سلولی بر روی هر لات انجام می‌شود. نتایج

¹ Pre-defined quantity

² Batch

³ Lot

⁴ Processed product

⁵ Gamma irradiated

⁶ HEPA filtered Class 100 cleanroom

⁷ Filling

⁸ Preserve

⁹ Batch release

¹⁰ Bovine Viral Diarrhea (BVD)

¹¹ Infectious Bovine Rhinotracheitis (IBR)

¹² Parainfluenza Type 3 (PI3)

¹³ Aerobic and anaerobic microorganisms

¹⁴ Mycoplasma content

¹⁵ Endotoxin levels

¹⁶ IgG concentration

¹⁷ 21 CFR Part 210 & 211

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

تمامی آزمون‌ها باید تأیید کنند که هر لات FBS استانداردهای کیفی سخت‌گیرانه و از پیش تعیین‌شده را برآورده ساخته یا از آن‌ها فراتر می‌رود.

با این حال، FBS از نظر نوع و غلظت فاکتورهای رشد و هورمون‌های موجود، همچنان از نظر شیمیایی به‌طور کامل تعریف‌شده نیست.^۱ از این رو، افزودن FBS به محیط‌های پایه رشد، موجب ایجاد میزان قابل توجهی از تغییرپذیری بین بچ‌ها^۲ می‌شود که می‌تواند به نتایج ناسازگار^۳ در کشت سلولی منجر گردد. این تغییرپذیری تنها پس از غربالگری هر بچ FBS به‌منظور اطمینان از یکنواختی^۴ و قابلیت بازتولید آن^۵ از نظر ویژگی‌های رشد سلولی^۶، کاهش یا حذف می‌شود و در نتیجه می‌تواند تعدیل یابد.

منشأ جغرافیایی^۷ ماده اولیه نیز از اهمیت بسزایی برخوردار است. خون گاوی از گله‌هایی جمع‌آوری می‌شود که در کشورهایی با وضعیت بهداشتی دام شناخته‌شده، به‌دقت پایش‌شده^۸، مستندسازی‌شده^۹ و مورد قبول، پرورش یافته‌اند و واردات آن‌ها توسط وزارت کشاورزی ایالات متحده^{۱۰} (USDA) تأیید شده است. این تصمیم بر اساس اطلاعات منتشرشده توسط سازمان جهانی بهداشت دام^{۱۱} اتخاذ می‌شود؛ سازمانی که وضعیت سلامت دام در کشورها یا مناطق مختلف را تعیین و اعلام می‌کند.

از جمله مناطقی که USDA آن‌ها را عاری از بیماری‌های واگیر غیر بومی^{۱۲} مانند تب برفکی^{۱۳} (FMD)، طاعون گاوی^{۱۴} (Rinderpest)، بیماری وزیکولار خوک^{۱۵} (SVD) و انسفالوپاتی اسفنجی‌شکل گاوی^{۱۶} (BSE) می‌شناسد، می‌توان به آمریکای شمالی^{۱۷}، آمریکای مرکزی و جنوبی^{۱۸}، استرالیا و نیوزیلند اشاره کرد. افزون بر این، کشورهایی که مورد تأیید USDA هستند باید دارای زیرساخت‌های از پیش ایجادشده برای نگهداری کشتارگاه‌های دارای مجوز از مراجع ذی‌صلاح^{۱۹} باشند که به فرآوری ایمن دام‌های سالم اختصاص یافته‌اند. از این رو، حتی در کشورهای مورد تأیید USDA نیز گله‌های دامی باید هم پیش از کشتار و هم پس از آن توسط یک مرجع صلاحیت‌دار و شناخته‌شده به‌عنوان کارشناس، مورد بازرسی قرار گیرند. ایمن بودن هر گله به‌طور رسمی مستندسازی می‌شود تا اطمینان حاصل گردد که رویه‌های مصوب رعایت شده و سطح مناسبی از کیفیت حاصل شده است. هر لات سرم جنین گاوی (FBS)

¹ Chemically undefined

² Between-batch variability

³ Inconsistent cell culture results

⁴ Consistency

⁵ Reproducibility

⁶ Cell growth characteristics

⁷ Geographical origin

⁸ Well-monitored

⁹ Documented

¹⁰ US Department of Agriculture (USDA)

¹¹ World Organization for animal health

¹² Exotic diseases

¹³ Foot and Mouth Disease (FMD)

¹⁴ Rinderpest

¹⁵ Swine Vesicular Disease (SVD)

¹⁶ Bovine Spongiform Encephalopathy (BSE)

¹⁷ North America

¹⁸ Central and South America

¹⁹ Authority-licensed slaughter houses

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

همراه با "گواهی آنالیز" (Certificate of Analysis; COA) و "گواهی مبدأ" (Certificate of Origin; COO) ارائه می‌شود. گواهی مبدأ تضمین می‌کند که هر لات قابلیت ردیابی تا کشتارگاه مورد تأیید USDA در کشور مبدأ را دارا است.

سوابق مربوطه معمولاً برای یک دوره زمانی مشخص نگهداری می‌شوند تا اطمینان حاصل گردد که انتخاب گله، هر یک از مراحل فرآوری و نتایج آزمون‌های انجام‌شده به‌طور مستقیم با هر بچ سرم جنین گاوی (FBS) تولیدشده و تحویل‌گرفته‌شده توسط مصرف‌کننده نهایی قابل ارتباط و مستندسازی باشند. "قابلیت ردیابی" (Traceability) تمامی مواد مورد استفاده در تولید هر بچ سرم- از منشأ گله تا محصول نهایی FBS- از اهمیت اساسی برخوردار است، به‌ویژه زمانی که FBS در ساخت فرآورده‌های زیستی تحقیقاتی (Investigational Biologic Products) با کاربرد بالینی مورد استفاده قرار می‌گیرد.

۱۴-۳- کاربرد سرم جنین گاوی (FBS) در تولید داروها و فرآورده‌های زیستی انسانی

اگرچه استفاده از سرم جنین گاوی (FBS) در تولید محصولات درمان سلولی^۱ طی سال‌های اخیر مورد انتقاد قرار گرفته است، شماری از گزارش‌های منتشرشده نشان می‌دهند که گذار به پروتکل‌های فاقد زئون (Xeno-free) با روندی کند پیش می‌رود. اکثریت- یعنی بیش از ۸۰ درصد- پرونده‌های نظارتی ارائه‌شده^۲ به سازمان غذا و داروی ایالات متحده (FDA) استفاده از FBS را در فرآیند تولید توصیف می‌کنند. اگرچه این آمار در زمینه کارآزمایی‌های بالینی مبتنی بر سلول‌های بنیادی مزانشیمی (MSC) گزارش شده است، اما آمار مشابهی در طیف وسیعی از محصولات درمان سلولی نیز قابل مشاهده است. غلظت FBS در محیط‌های کشت معمولاً در بازه‌ای حدود ۲ تا ۲۰ درصد متغیر است که ۱۰ درصد رایج‌ترین میزان مصرف را تشکیل می‌دهد. غلظت‌های متفاوت FBS منجر به مقادیر متفاوتی از هورمون‌ها و فاکتورهای رشد موجود در آن می‌شود. از این‌رو، اغلب تولیدکنندگان فرآورده‌های زیستی، بچ‌های FBS را ارزیابی و تأیید صلاحیت می‌کنند تا قابلیت مقایسه و یکنواختی بین لات‌ها (lot-to-lot comparability) حاصل گردد.

سرم جنین گاوی فرآوری‌شده (Processed FBS) دارای طیف گسترده‌ای از کاربردها است. بی‌تردید یکی از مهم‌ترین حوزه‌های کاربرد آن، صنعت داروسازی و فرآورده‌های زیستی است؛ جایی که FBS در پژوهش‌های کشت سلولی، در فعالیتهای تحقیق و

^۱ Cellular therapy products

^۲ Regulatory submissions

^۳ (MSC)-based clinical trials

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

توسعه (R&D) محصولات، و نیز در تولید فرآورده‌های زیستی - یعنی محصولات سلولی با کاربردهای بالینی که تحت نظارت سازمانهای رگولاتوری مانند غذا و داروی ایالات متحده آمریکا (FDA) قرار دارند- مورد استفاده قرار می‌گیرد. بسیاری از محصولات درمان سلولی در خط مقدّم و مرزهای پیشرفته توسعه دارو قرار دارند.

سرم حاصل از لخته شدن طبیعی خون^۱، در مقایسه با پلاسما، در تحریک تکثیر سلولی^۲ مؤثرتر است. به نظر می‌رسد این امر ناشی از آزادسازی برخی پلی‌پپتیدها از پلاکت‌های فعال‌شده^۳ در طی فرآیند انعقاد^۴ باشد. تعدادی از فاکتورهای رشد^۵ و مواد معدنی ضروری^۶ به‌عنوان عواملی شناسایی شده‌اند که بیان ژن‌های اختصاصی را تنظیم می‌کنند، چرخه سلولی^۷ و تقسیم سلولی^۸ را آغاز و کنترل می‌نمایند و تمایز اختصاصی سلولی را برنامه‌ریزی می‌کنند. نقش اصلی سرم در محیط‌های کشت، تأمین و انتقال فاکتورهای هورمونی است که دارای چندین کارکرد اساسی هستند. نخستین کارکرد، تحریک رشد و تکثیر سلولی و نیز تسهیل تمایز و اتصال سلول‌ها^۹ است. دوّمین کارکرد، کمک به انتقال پروتئین‌های حامل هورمون‌ها، مواد معدنی، عناصر کمیاب^{۱۰} و لیپیدها، و همچنین عوامل پایدارکننده و سم‌زدایی^{۱۱} است؛ عواملی که همگی برای حفظ pH بهینه ضروری‌اند یا به‌طور مستقیم یا غیرمستقیم موجب مهار پروتئازهایی نظیر آلفا-آنتی‌تریپسین (α -antitrypsin) و آلفا-۲-ماکروگلوبولین (α 2-macroglobulin) و سایر مولکول‌های سمی می‌شوند.

در کاربردهای بالینی، لازم است کنترل دقیق و سخت‌گیرانه‌ای بر تمامی مراحل تولید سرم جنین گاوی (FBS) اعمال شود. فرآیند تولید که از مرحله جمع‌آوری تا آزادسازی محصول نهایی^{۱۲} به‌صورت دقیق کنترل و اعتبارسنجی می‌شود، حداقل‌سازی خطر آلودگی^{۱۳} به عوامل اتفاقی و خارجی (adventitious agents)، عاری بودن از عناصر باکتریایی و قارچی، میزان پایین اندوتوکسین، مقادیر یکنواخت IgG و هموگلوبین و نیز سایر اجزای تشکیل‌دهنده FBS را تضمین می‌کند. این امر منجر به یکنواختی بین لات‌ها (lot-to-lot consistency) و عملکرد برتر محصول^{۱۴} می‌شود.

¹ Natural clot serum

² Cell proliferation

³ Activated platelets

⁴ Clotting process

⁵ Growth factors

⁶ Essential minerals

⁷ Cell cycle

⁸ Cell division

⁹ Cell differentiation and attachment

¹⁰ Trace elements

¹¹ Stabilizing and detoxifying factors

¹² Final product release

¹³ Minimal risk of contamination

¹⁴ Superior performance

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

در ایالات متحده و اروپا، نهادهای نظارتی متعددی^۱ در تعیین استانداردها و تعریف الزامات^۲ مرتبط با استفاده از سرم گاوی در تولید محصولات درمان سلولی با کاربرد بالینی^۳ دخیل هستند. در ایالات متحده، فرآورده‌های سرم گاوی تحت نظارت سازمان غذا و داروی آمریکا (FDA) قرار دارند و باید از اصول^۴ و رویه‌های^۵ مندرج در فارماکوپه ایالات متحده^۶ (USP) و الزامات وزارت کشاورزی ایالات متحده^۷ (USDA) تبعیت کنند. هر دو نهاد USDA و USP مقرراتی را تدوین کرده‌اند که شرایط و روش‌های کشتار^۸، نگهداری^۹، جابه‌جایی و دستورزی^{۱۰}، فرآوری^{۱۱}، تیمار^{۱۲}، آزمون^{۱۳}، انبارش^{۱۴} و حمل‌ونقل^{۱۵} محصولات مشتق از سرم گاوی^{۱۶} را به‌منظور به حداقل رساندن خطر آلودگی به عوامل میکروبی ناخواسته^{۱۷} تنظیم می‌کند.

مقررات مصوب تضمین می‌کنند که سرم گاوی از خونی تهیه شود که در کشورهایی با وضعیت سلامت دام شناخته‌شده^{۱۸}، به‌خوبی پایش‌شده^{۱۹}، مستندسازی‌شده^{۲۰} و قابل قبول، جمع‌آوری شده است. در اروپا، نهادهای مسئول در تنظیم مقررات تولید سرم گاوی شامل کمیسیون اروپا^{۲۱}، اداره اروپایی کیفیت داروها و مراقبت‌های سلامت^{۲۲} (EDQM) و آژانس دارویی اروپا^{۲۳} (EMA) هستند. از جمله مسئولیت‌های EMA تدوین دستورالعمل‌های علمی در زمینه توسعه^{۲۴}، تولید^{۲۵} و کنترل^{۲۶} فرآورده‌های دارویی است. با الزام به انجام آزمون‌های گسترده برای شناسایی انواع عوامل اتفاقی^{۲۷}، نهادهای نظارتی ایالات متحده و اروپا^{۲۸} اطمینان حاصل می‌کنند که سرم گاوی فرآوری‌شده مورد استفاده در تولید داروها یا محصولات سلولی با کاربرد بالینی، الزامات تعیین‌شده در اسناد مقرراتی مربوطه را برآورده می‌سازد.

¹ Regulatory bodies

² Requirements

³ Clinical use

⁴ Practices

⁵ Procedures

⁶ United States Pharmacopeia (USP)

⁷ US Department of Agriculture (USDA)

⁸ Slaughter

⁹ Storage

¹⁰ Manipulation

¹¹ Processing

¹² Treatment

¹³ Testing

¹⁴ Storage

¹⁵ Transport

¹⁶ Bovine serum-derived products

¹⁷ Adventitious organisms

¹⁸ Acceptable animal health status

¹⁹ Well-monitored

²⁰ Documented

²¹ European Commission

²² European Directorate for the Quality of Medical and Healthcare (EDQM)

²³ European Medical Agency (EMA)

²⁴ Development

²⁵ Manufacture

²⁶ Control

²⁷ Adventitious agents

²⁸ US and European regulatory agencies

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

الزامات آزمون^۱ تعیین‌شده توسط EMA و USDA دارای وجوه مشترک متعددی هستند و تأکید اصلی آن‌ها بر کنترل کیفیت (Quality Control)، تضمین کیفیت (Quality Assurance)، کشور مبدأ و قابلیت ردیابی محصول^۲، و نیز آزمون‌های مربوط به محصول نهایی است؛ مواردی که در اسناد رسمی و منتشرشده مقرراتی به‌طور دقیق تشریح شده‌اند.

محصولات درمان سلولی تحقیقاتی^۳ که بیش از حداقل دستکاری شده‌اند (More than minimally manipulated) و برای کاربردهای بالینی در نظر گرفته می‌شوند، به‌عنوان فرآورده‌های زیستی (Biologics) طبقه‌بندی شده و تحت نظارت قرار می‌گیرند و باید مطابق با الزامات^۴ اصول جاری تولید خوب^۵ (current Good Manufacturing Practices; cGMPs) تولید شوند؛ الزاماتی که به‌تفصیل در CFR ۲۱ بخش‌های ۲۱۰ و ۲۱۱^۶ تشریح شده‌اند. این مقررات فدرال مدون^۷ است که توسط سازمان غذا و داروی ایالات متحده^۸ (FDA) وضع شده‌اند- مجموعه‌ای پیچیده از قوانین و الزامات^۹ را برای هر فرآیند تولید دارویی^{۱۰} تعیین می‌کنند. به‌منظور تضمین ایمنی^{۱۱}، خلوص^{۱۲}، توان زیستی (potency) و اثربخشی^{۱۳} محصول نهایی، الزامات GMP حداقل استانداردهای لازم برای تأسیسات^{۱۴}، تجهیزات^{۱۵} و کنترل محصول و فرآیند^{۱۶} را تعیین می‌کنند. بخش اخیر شامل کنترل دقیق، استانداردسازی و آزمون مواد اولیه^{۱۷} مورد استفاده در هر فرآیند تولیدی است و در این میان، توجه ویژه‌ای به سرم جنین گاوی (FBS) می‌شود که تحت شرایط کاملاً کنترل‌شده فرآوری شده است. سرم ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی^{۱۸} محیط‌های کشت سلولی از جمله ویسکوزیته^{۱۹}، اسمولالیته^{۲۰}، ظرفیت بافری^{۲۱} و نرخ‌های انتشار^{۲۲} را تغییر می‌دهد. همچنین به محافظت از سلول‌ها در برابر آسیب‌های مکانیکی که ممکن است در کشت‌های هم‌زده (stirred cultures) یا هنگام استفاده از اسکرپر سلولی^{۲۳} رخ دهد، کمک می‌کند. با وجود تفاوت در نیازهای رشد انواع مختلف سلول‌ها، سرم می‌تواند در طیف گسترده‌ای از کشت‌های سلولی مورد استفاده قرار گیرد.

مطالعات اخیر ظرفیت سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از مغز استخوان^{۲۴} (BM-MSCs) را به‌عنوان رویکردهای بازسازی امیدبخش برای ترمیم اندام‌های مختلف، از جمله میوکارد، مورد تأیید قرار داده‌اند. از زمان اجرای نخستین کارآزمایی بالینی تزریق

¹ Testing requirements

² Traceability of the product

³ Investigational cellular therapy products

⁴ 21 CFR Part 210 & 211

⁵ Codified federal regulations

⁶ US FDA

⁷ Rules and requirements

⁸ Pharmaceutical manufacturing process

⁹ Safety

¹⁰ Purity

¹¹ Efficacy

¹² Equipment

¹³ Equipment

¹⁴ Product and process control

¹⁵ Raw materials

¹⁶ Physiochemical properties

¹⁷ Viscosity

¹⁸ Osmolality

¹⁹ Buffering capacity

²⁰ Diffusion rates

²¹ Cell scraper

²² Bone marrow (BM) derived MSCs (BM-MSCs)

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

سلول‌های مغز استخوان (BMC) در سال ۱۹۹۵، بیش از ۲۰۰۰ بیمار با استفاده از سلول‌های مزانشیمی آلونژیک یا اتولوگ^۱ برای درمان طیف وسیعی از بیماری‌ها از جمله بیماری پیوند علیه میزبان^۲ (GVHD)، بدخیمی‌های هماتولوژیک^۳، بیماری‌های قلبی-عروقی^۴، اختلالات نورودژنراتیو و نورولوژیک، بیماری‌های خودایمنی، زخم‌های مقاوم به درمان^۵، نقایص استخوان و غضروف، و همچنین به‌عنوان درمان‌های تعدیل‌کننده ایمنی در پیوند اعضا تحت مداخله قرار گرفته‌اند. شماری از کارآزمایی‌های بالینی تکمیل شده و نیز مطالعات در حال انجام، به‌طور مستند امکان‌پذیری اجرایی و ایمنی این رویکرد درمانی را نشان داده‌اند. با این وجود، علی‌رغم دستیابی به درجاتی از اثربخشی در برخی کارآزمایی‌های محدود، اثبات قطعی کارایی درمان مبتنی بر MSC‌های مشتق از مغز استخوان در گستره‌ای از حالات پاتولوژیک مختلف، همچنان به‌عنوان هدفی چالش‌برانگیز و تحقق‌نیافته باقی مانده است.

به‌منظور پرداختن به این مسئله، ایکبه و سوزوکی^۶ از دانشگاه لندن، روش‌شناسی جداسازی، کشت و تکثیر^۷ سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از مغز استخوان (BM-MSCs) را که در بیش از ۲۰۰ کارآزمایی بالینی تکمیل شده و در حال انجام مبتنی بر درمان با MSC - و ثبت شده در پایگاه کارآزمایی‌های بالینی مؤسسه ملی سلامت ایالات متحده^۸ (NIH) - به کار گرفته شده بود، مورد بررسی قرار دادند. آنان ۴۷ گزارش از کارآزمایی‌های بالینی را که از این رویکرد درمانی استفاده کرده و نتایج آن‌ها بین سال‌های ۲۰۰۷ تا ۲۰۱۳ منتشر شده بود، انتخاب کردند. در ۶۶ درصد از این کارآزمایی‌ها از MSC‌های اتولوگ^۹ و در ۳۴ درصد باقیمانده از سلول‌های آلونژیک^{۱۰} استفاده شده بود. نویسندگان عوامل متعددی را که بر ویژگی‌های محصول نهایی تأثیر می‌گذارند بررسی کردند؛ عواملی که شامل، اما نه محدود به، جمعیت اولیه^{۱۱} مورد استفاده برای کشت MSC (یعنی مغز استخوان کامل^{۱۲} در مقابل سلول‌های تک‌هسته‌ای^{۱۳} [MNCs])، تراکم کشت (seeding density)، نوع ظروف کشت^{۱۴}، محیط کشت و مکمل‌های مورد استفاده^{۱۵} در طول کشت، و مدت زمان کشت^{۱۶} بودند. داده‌های گردآوری شده در این مطالعه نشان داد که سرم جنین گاوی (FBS) به‌طور گسترده‌تری به‌عنوان منبع مکمل فاکتورهای رشد و هورمون‌ها در طی کشت مورد استفاده قرار گرفته است؛ به‌گونه‌ای که در ۷۳ درصد از کارآزمایی‌های بالینی از ۱۰ درصد FBS و در ۵ درصد از مطالعات از ۱۵ تا ۲۰ درصد FBS استفاده شده بود. نویسندگان خاطرنشان

¹ Allogeneic or autologous MSCs

² Graft-versus-host disease

³ Hematologic malignancies

⁴ Cardiovascular disease

⁵ Refractory wounds

⁶ Ikebe and Suzuki

⁷ Expansion

⁸ US National Institute of Health (NIH, <http://www.ClinicalTrial.gov>)

⁹ Autologous MSCs

¹⁰ Allogeneic cells

¹¹ Staring population

¹² Whole BM

¹³ Mononuclear cells (MNCs)

¹⁴ Cell culture vessels

¹⁵ Media and supplements

¹⁶ Duration of culture

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

کردند که علی‌رغم تولید FBS در محیطی به‌شدت کنترل‌شده و تحت نظارت‌های سخت‌گیرانه، این سرم از نظر فعالیت فاکتورهای رشد و هورمونی دچار تغییرپذیری^۱ قابل‌توجهی بوده و تنوع زیادی را نشان می‌دهند. از این رو، در صورت تجاری‌سازی درمان‌های مبتنی بر MSC، لازم خواهد بود مقادیر قابل‌توجهی از بچ‌های FBS که از نظر ویژگی‌های رشد سلولی آزمون و تأیید شده‌اند، ذخیره و نگهداری شوند.

استفاده موفق از سرم جنین گاوی (FBS) در طی کشت و تکثیر سلول‌های بنیادی مزانشیمی (MSCs) و همچنین سایر انواع سلول‌های بنیادی، طی سال‌های گذشته گزارش شده است. کاروسیس و همکاران^۲، امکان‌پذیری^۳، ایمنی^۴ و آثار ایمنولوژیک^۵ تجویز داخل‌نحای^۶ و داخل‌وریدی^۷ MSC‌های اتولوگ را در بیماران مبتلا به ام‌اس^۸ (MS) و اسکروز جانبی آمیوتروفیک^۹ (ALS) در قالب یک کارآزمایی بالینی باز فاز ۲/۱ با تمرکز بر ایمنی^{۱۰} مورد ارزیابی قرار دادند. MSC‌ها به‌مدت ۴۰ تا ۶۰ روز در محیط کشت حاوی ۱۰ درصد FBS تکثیر داده شدند. در حالی که عارضه جانبی عمده‌ای ناشی از انفوزیون MSC گزارش نشد، پژوهشگران افزایش در جمعیت سلول‌های T تنظیمی CD4⁺CD25⁺^{۱۱}، کاهش پاسخ تکثیری لنفوسیت‌ها^{۱۲} و کاهش نسبت سلول‌های دندریتیک فعال^{۱۳} را گزارش کردند. لو بلان و همکاران^{۱۴} نتایج درمان بیماران مبتلا به بیماری شدید و حاد پیوند علیه میزبان (GVHD) مقاوم به استروئید - که یکی از عوارض تهدیدکننده حیات پس از پیوند آلوژنیک سلول‌های بنیادی خون‌ساز (HSCs) است - را در یک مطالعه چندمرکزی فاز II بالینی گزارش نمودند. در این مطالعه، بیماران با MSC‌های مشتق از مغز استخوان که به‌صورت برون‌تنی (ex vivo) تکثیر یافته بودند، درمان شدند. MSC‌های با درجه بالینی (Clinical-grade) تحت شرایط منطبق با اصول GMP تولید شدند. به‌طور مشخص، سلول‌های تک‌هسته‌ای مغز استخوان (BM-MNCs) از طریق سانتریفیوژ گرادیان چگالی^{۱۵} جداسازی شده و سپس در محیط کشت حاوی ۱۰ درصد FBS سوسپانسه گردیدند. نتایج این مطالعه نشان داد که پروتکل تکثیر MSC ایمن است و درمان مبتنی بر MSC روشی ایمن و مؤثر برای بیماران مبتلا به GVHD حاد و شدید است که به کورتیکواستروئیدها و/یا سایر درمان‌های سرکوب‌کننده ایمنی^{۱۶} پاسخ نمی‌دهند.

¹ Variation

² Karussis et al

³ Feasibility

⁴ Safety

⁵ Immunological effects

⁶ Intrathecal

⁷ Intravenous

⁸ Multiple sclerosis (MS)

⁹ Amyotrophic lateral sclerosis (ALS)

¹⁰ Phase 1/2 open-safety clinical trial

¹¹ CD4⁺CD25⁺ T regulatory cell population

¹² Proliferate responses of lymphocytes

¹³ Decreased proportion of activated dendritic cells

¹⁴ Le Blanc et al

¹⁵ Density gradient centrifugation

¹⁶ Immunosuppressive therapies

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

۱۵-۳- جایگزین‌های سرم جنین گاوی (FBS) و محیط‌های کشت فاقد سرم^۱

افزودن^۲ سرم حیوانی به محیط‌های کشت پایه^۳ برای رشد سلولی و تحریک تکثیر سلول‌ها ضروری است. سرم جنین گاوی (FBS) به دلیل آن‌که مخلوطی بسیار پیچیده از تعداد زیادی ترکیبات مختلف - شامل بیومولکول‌های با وزن مولکولی پایین و بالا با فعالیت‌های فیزیولوژیک مختلف و متعادل در تحریک یا مهار رشد- است، بیش از سایر منابع به عنوان تأمین‌کننده فاکتورهای رشد در محیط‌های کشت مورد استفاده قرار گرفته و نسبتاً به سهولت در درجه‌ای نزدیک به "گرید بالینی" در دسترس است. با این حال، باید توجه داشت که به دلیل ماهیت نسبتاً ناشناخته و تعریف نشده FBS، بچ‌های مختلف آن از نظر ترکیب کیفی و کمی^۴ - از جمله فعالیت فاکتورهای رشد و هورمون‌ها- تفاوت قابل توجهی نشان می‌دهند و این ویژگی‌ها از یک بچ به بچ دیگر تغییر می‌کند. بنابراین، تغییرپذیری بین بچ‌ها (batch-to-batch variability) به طور معناداری وجود دارد. افزون بر این، FBS همچنان با نگرانی‌های ایمنی^۵ همراه است که شامل آلودگی باکتریایی و/یا قارچی، انتقال بیماری‌های پریونی یا ویروسی، بروز واکنش‌های آنافیلاکسی^۶، و تولید آنتی‌بادی‌های ضد FBS می‌شود. در واقع، مراجع نظارتی^۷ در شمار قابل توجهی از کشورها -از جمله کشورهای عضو اتحادیه اروپا- در حال حاضر استفاده از FBS را در کاربردهای بالینی ممنوع کرده‌اند. در مقابل، برخی کشورها نظیر استرالیا و ایالات متحده (از جمله اداره کالاهای درمانی استرالیا^۸ و سازمان غذا و داروی آمریکا (FDA)، استفاده از FBS را برای تولید محصولات با گرید بالینی مجاز می‌دانند، مشروط بر آن‌که FBS از گاوهایی تأمین شده باشد که در کشوری عاری از انسفالوپاتی اسفنجی شکل گاوی^۹ (BSE) قرار دارد. این کشورها شامل مناطق آمریکای مرکزی و جنوبی، ایالات متحده آمریکا، استرالیا و نیوزیلند هستند.

به منظور اجتناب از خطرات مرتبط با استفاده از FBS و سایر مکمل‌های با منشأ حیوانی^{۱۰}، به کارگیری مکمل‌های محیط کشت با منشأ انسانی - از جمله سرم انسانی آلوزنیک یا اتولوگ^{۱۱}، لیزات پلاکتی (PL)^{۱۲}، آلبومین سرم انسانی (HSA)^{۱۳}، خون بند ناف^{۱۴} و

^۱ FBS substitutes and serum-free media

^۲ Supplementation

^۳ Basal culture media

^۴ Qualitative and quantitative variation

^۵ Safety issues

^۶ Anaphylactic reactions

^۷ Regulatory authorities

^۸ Australian Therapeutic Goods Authority

^۹ Bovine spongiform encephalitis (BSE)

^{۱۰} Animal-sourced supplements

^{۱۱} Human allergenic or autologous serum

^{۱۲} Platelet lysate (PL)

^{۱۳} Human serum albumin (HAS)

^{۱۴} Umbilical cord blood

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

سرم جفت^۱ (بافت‌های غنی از فاکتورهای رشد اولیه) - پیشنهاد شده است. با این حال، تأثیر سرم انسانی آلوژنیک (HS)^۲ و سرم اتولوگ (AS)^۳ اخذ شده از اهداکنندگان بالغ در افزایش تکثیر سلول‌های بنیادی مزانشیمی (MSCs)، همراه با حفظ ویژگی‌های سلولی و عملکردی مهم، همچنان محل بحث و اختلاف نظر است.

نتایج برخی مطالعات نشان می‌دهد که MSCهای انسانی در محیط‌های کشت مکمل شده با سرم انسانی آلوژنیک HS، به‌مراتب سریع‌تر از MSCهای کشت‌شده با FBS تکثیر می‌شوند، در حالی که ظرفیت تمایز کندروژنیک یا استئوژنیک در هر دو گروه مشابه باقی می‌ماند. با این وجود، گزارش‌هایی نیز از نتایج متناقض در استفاده از سرم انسانی منتشر شده است. اگرچه استفاده از سرم اتولوگ یا AS می‌تواند نگرانی‌های ایمنی گسترده مرتبط با FBS را کاهش دهد، محدودیت‌هایی نیز وجود دارد. از آنجا که برای تولید محصولات درمانی مبتنی بر MSC با کیفیت بالا^۴ و منطبق با الزامات نظارتی، مقادیر زیادی سرم مورد نیاز است، تأمین حجم کافی از سرم اتولوگ برای تولید تعداد بالینی معنادار از MSCها چالش‌برانگیز خواهد بود. این امر تا حدی به این دلیل است که سرم اتولوگ بیماران سالمند ممکن است توانایی کاهش‌یافته‌ای در حمایت از رشد سلولی داشته باشد و همچنین جمعیت اهداکنندگان در محدوده سنی مناسب^۵ برای پاسخگویی به تقاضای فعلی کافی نیست. افزون بر این، هم‌ابتلائی‌ها و بیماری‌های زمینه‌ای (co-morbidities) اهداکنندگان، نظیر دیابت، و وضعیت التهابی فعال ناشی از آسیب^۶ می‌تواند به‌طور بالقوه بر کیفیت سرم تأثیر بگذارد. از این رو، استفاده از سرم آلوژنیک به‌خوبی مشخصه‌یابی شده^۷ که از یک جمعیت اهداکننده جوان، سالم، عاری از بیماری^۸ و کنترل شده از نظر گروه خونی ABO به‌صورت تجمیعی (pooled) تهیه شده باشد، می‌تواند رویکردی سودمند تلقی شود.

لیزات پلاکتی انسانی (Human Platelet Lysate; HPL) در سال‌های اخیر به‌عنوان یک مکمل محیط کشت با منشأ انسانی، بیشتر مورد توجه و ترجیح استفاده قرار گرفته است و در ۱۰ درصد از ۴۷ کارآزمایی بالینی مورد تحلیل توسط ایکبه و سوزوکی مورد استفاده قرار گرفته است. لیزات پلاکتی را می‌توان به‌سهولت از فرآورده‌های آفرزیس^۹ و همچنین از لایه بافی‌کوت (buffy coat) افراد داوطلب سالم تهیه کرد و امکان تجمیع (pooling) آن از چندین اهداکننده سالم نیز وجود دارد. بلافاصله پس از جمع‌آوری،

^۱ Placental serum

^۲ Human allogeneic serum (hHS)

^۳ Human autologous serum (hAS)

^۴ Regulation-compliant MSC based therapeutic products

^۵ Age-appropriate donors

^۶ Injury-associated active inflammatory state

^۷ Well-characterized allogeneic serum

^۸ Disease-free donor population

^۹ Apheresis products

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

فرآورده‌های پلاکتی در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد منجمد شده و سپس ذوب می‌شوند تا فاکتورهای رشد موجود در پلاکت‌ها آزاد شده و بقایای پلاکتی از طریق سانتریفیوژ بعدی حذف گردد.

ویژگی‌های زیستی لیفات پلاکتی مبتنی بر آزادسازی مجموعه‌ای از فاکتورهای رشد متعدد است که شامل فاکتورهای رشد مشتق از پلاکت (PDGFs)^۱، فاکتور رشد فیبروبلاستی پایه (b-FGF)^۲، فاکتور رشد اندوتلیال عروقی (VEGF)^۳، فاکتور رشد شبه‌انسولینی-۱ (IGF-1)^۴ و فاکتور رشد تغییر دهنده بتا (TGF-β)^۵ می‌شود؛ عواملی که همگی به بهبود ظرفیت تکثیری سلول‌های بنیادی مزانشیمی (MSCs) کمک می‌کنند. در بررسی امکان رشد MSCها در محیط‌های مکمل‌شده با HPL، دوسه و همکاران^۶ نشان دادند که در مقایسه با محیط‌های کشت حاوی FBS، استفاده از HPL قادر است تکثیر MSCها را به‌طور مؤثرتری افزایش دهد، زمان لازم برای رسیدن به هم‌پوشانی سلولی (cell confluence) را کاهش دهد و کارایی کلونوژنیک (clonogenic efficiency) را افزایش بخشد. برناردو و همکاران^۷ این یافته‌ها را تأیید کردند و نشان دادند که سلول‌های بنیادی مزانشیمی (MSCs) تکثیر یافته در محیط‌های کشت مکمل‌شده با ۱۰ درصد FBS یا ۵ درصد لیفات پلاکتی انسانی (HPL)، از نظر خلوص سلولی^۸، مورفولوژی^۹، فنوتیپ و ظرفیت تمایزی^{۱۰} ویژگی‌های قابل مقایسه‌ای را نشان می‌دهند. بیان نشانگرهای اختصاصی MSC در سلول‌های کشت‌شده در محیط حاوی HPL در تمامی اهداکنندگان مورد بررسی، بدون تغییر باقی ماند. افزون بر این، نویسندگان نشان دادند که کارایی کلونوژنیک، ظرفیت تکثیری و ویژگی‌های تنظیم‌کنندگی ایمنی MSCها در شرایط کشت با ۵ درصد HPL به‌مراتب برتر از شرایط حاوی ۱۰ درصد FBS است. با این حال، ظرفیت سرکوب ایمنی MSCهای کشت‌شده در HPL^{۱۱} در مهار تکثیر لنفوسیت‌های القا شده توسط آلوانتی‌ژن^{۱۲}، در مقایسه با MSCهای کشت‌شده در FBS کمتر مشهود بود. هافبائوئر و همکاران^{۱۳} استفاده از HPL را به‌عنوان جایگزین بالقوه FBS در محیط کشت سلول‌های اندوتلیال (ECs) مورد بررسی قرار دادند و گزارش کردند که بیان نشانگرهای اختصاصی EC در سلول‌های کشت‌شده در FBS و HPL مشابه است. همچنین عبدالرازق و همکاران^{۱۴} تأیید کردند که استفاده از HPL در محیط کشت تهیه شده برای تکثیر MSCها با کاهش ظرفیت سرکوب ایمنی وابسته به MSC در شرایط in vitro همراه است. این پژوهشگران علاوه بر این

¹ Platelet-derived growth factors (PDGFs)

² Basic fibroblast growth factor (b-FGF)

³ Vascular endothelial growth factor (VEGF)

⁴ Insulin growth factor-1 (IGF-1)

⁵ Transforming growth factor (TGF-b)

⁶ Doucet et al

⁷ Bernardo et al

⁸ Cell purity

⁹ Morphology

¹⁰ Differentiation capacity

¹¹ Immunosuppressive capacity of the MSCs-HPL

¹² Alloantigen-induced lymphocyte proliferation

¹³ Hofbauer et al

¹⁴ Abdelrazik et al

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

نشان دادند که اگرچه تکثیر سلولی به‌طور قابل توجهی افزایش می‌یابد، MSC‌های کشت شده در محیط مکمل شده با HPL تغییراتی در بیان نشانگرهای سطحی اختصاصی MSC از خود نشان می‌دهند.

اگرچه استفاده از مکمل‌های با منشأ انسانی - در مقایسه با FBS - برای کاربردهای درمانی انسانی نسبتاً ایمن تر تلقی می‌شود، اما در عین حال استفاده از مکمل‌های با منشأ انسانی همچنان محل بحث‌های قابل توجهی است. همواره نگرانی‌های خاص مربوط به هر محصول سلولی در ارتباط با استفاده از مکمل‌های محیط کشت مشتق از منابع انسانی آلوژنیک کماکان وجود دارد. همواره این خطر مطرح است که هر فرآورده انسانی آلوژنیک ممکن است به پاتوژن‌های انسانی آلوده باشد که در غربالگری‌های معمول شناسایی نشوند. علاوه بر این، فرآورده‌های خام^۱ مشتق از خون انسان نیز همانند FBS از نظر ترکیب، به‌طور کامل تعریف و مشخصه‌یابی نشده‌اند. از این‌رو، یک تنوع و تغییرپذیری ذاتی در استفاده از این ترکیبات به‌عنوان مکمل محیط کشت^۲ برای تولید فرآورده‌های درمانی سلولی با کاربرد بالینی وجود دارد؛ به‌ویژه از نظر توانایی آن‌ها در حفظ رشد یکتواخت MSC‌ها^۳ و پتانسیل درمانی آن‌ها. پیش از آن که HPL به‌عنوان جایگزین استاندارد FBS پذیرفته شود، داده‌های تکمیلی و شواهد بیشتری مورد نیاز است.

نگرانی‌های ناشی از استفاده از سرم جنین گاوی (FBS) با ترکیب نامشخص یا مکمل‌های محیط کشت با منشأ انسانی که به‌طور کامل تعریف نشده‌اند، ضرورت توسعه محیط‌های کشت فاقد سرم^۴ و/یا فاقد فرآورده‌های حیوانی^۵ را تقویت کرده است. در حال حاضر، اهمیت کشت سلول‌های پستانداران در محیط‌هایی بدون مکمل‌های سرمی با منشأ حیوانی^۶ به‌خوبی مورد پذیرش قرار گرفته است. در نتیجه، طی دو دهه گذشته توسعه سریع محیط‌های کشت فاقد سرم و/یا محیط‌های کشت شیمیایی تعریف شده که به‌صورت تجاری در دسترس هستند، صورت گرفته است. محیط‌های کشت شیمیایی تعریف شده^۷ می‌توانند مزایای قابل توجهی داشته باشند، زیرا ترکیب آن‌ها را می‌توان با جزئیات دقیق مشخص کرد؛ امری که موجب کاهش تغییرپذیری کمی و کیفی شده و تا حد زیادی یکی از منابع بالقوه آلودگی‌های میکروبی و بیماری‌های عفونی را حذف می‌کند. افزون بر این، استفاده از محیط‌های فاقد سرم و/یا محیط‌های شیمیایی تعریف شده می‌تواند چالش‌های اخلاقی مرتبط با استفاده گسترده جهانی از FBS را مرتفع سازد و در نتیجه تعداد جنین‌های گاوی مورد نیاز برای پاسخگویی به تقاضای فعلی FBS را کاهش دهد.

¹ Crude preparations
² Media supplements
³ Consistent MSC growth
⁴ Serum-free

⁵ Animal product-free cell culture media
⁶ Animal-sourced serum supplements
⁷ Chemically defined culture media

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

چنانچه یک محیط کشت سلولی "از نظر شیمیایی تعریف شده و مشخص"^۱ خاص، اثربخشی خود را در طیف متعددی از انواع سلولی نشان دهد، می‌توان آن را با دقت بالا بازتولید کرده^۲ و تولید آن را با مقیاس‌پذیری دقیق^۳ گسترش داد. از دیگر مزایای این نوع محیط‌ها آن است که محیط‌های "شیمیایی تعریف شده" می‌توانند فرآیند تولید^۴ را ساده‌تر کرده و آن را با الزامات محیط‌های مبتنی بر اصول جاری تولید خوب (cGMP) که برای ساخت فرآورده‌های درمانی سلولی با کاربرد بالینی ضروری است، انطباق دهند. با شناسایی^۵، کلون‌سازی^۶ و تولید نو ترکیب^۷ فاکتورهای رشد و مواد مغذی مورد نیاز انواع مختلف سلولی، طیف گسترده‌ای از محیط‌های کشت فاقد سرم و شیمیایی تعریف شده برای رده‌های سلولی مداوم و نامیرا^۸ و نیز انواع خاصی از سلول‌ها در کشت اولیه^۹ طراحی و به‌صورت تجاری در دسترس قرار گرفته است.

با این حال، مسائل مهمی نیز در ارتباط با استفاده از محیط‌های فاقد سرم وجود دارد. نرخ رشد سلولی^{۱۰} در این محیط‌ها همواره با نرخ رشد سلول‌های کشت شده در حضور مکمل‌های سرمی^{۱۱} قابل مقایسه نیست؛ هرچند لیندروس و همکاران^{۱۲} افزایش نرخ تکثیر سلول‌های بنیادی مشتق از بافت چربی (ADS)^{۱۳} را در محیط فاقد سرم نسبت به محیط‌های حاوی سرم گزارش کرده‌اند. از نخستین گروه‌هایی که تأثیر فاکتورهای رشد مختلف و سایر مکمل‌ها را بر MSCهای کشت شده در شرایط فاقد سرم بررسی کردند، گرونتوس و سیمونز بودند. آنان ۲۵ فاکتور رشد متفاوت را مورد مطالعه قرار دادند و دریافتند که ترکیب فاکتور رشد شبه‌انسولینی (IGF)، فاکتور رشد مشتق از پلاکت نوع BB (PDGF-BB) و فاکتور رشد اپیدرمال (EGF)^{۱۴} همراه با دگزامتازون و اسید آسکوربیک، در مقایسه با سایر ترکیبات فاکتورهای رشد یا کشت در محیط فاقد سرم، منجر به بازده بالاتر تولید MSC می‌شود.

از آنجا که نشان داده شده است فرآورده‌های سلولی کشت شده^{۱۵}، تکثیر یافته^{۱۶} و تمایز یافته در شرایط برون‌تنی (Ex vivo) به‌عنوان درمان جایگزین^{۱۷} در طیف متعددی از بیماری‌ها ایمن هستند، این رویکردها با استقبال فزاینده‌ای مواجه شده‌اند. گذار از مرحله

¹ Chemically defined
² Reproduced
³ Scaled up with great precision
⁴ Manufacturing process
⁵ Identification
⁶ Cloning
⁷ Recombinant production
⁸ Continuous (immortal) cell lines
⁹ Primary culture

¹⁰ Rate of cell growth
¹¹ Serum supplements
¹² Lindroos et al
¹³ Adipose derived stem cells (ADS)
¹⁴ Epidermal growth factors (EGF)
¹⁵ Cultured
¹⁶ Expanded
¹⁷ Replacement therapy

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

تکثیر (Expansion) به فاز تمایز (Differentiation) تحت شرایط تعریف شده و کنترل شده می‌تواند تولید این فرآورده‌های درمانی سلولی برای کاربرد بالینی و تجاری‌سازی^۱ آن‌ها را تسهیل نماید.

انتقال و ترجمان درمان‌های سلولی به عرصه بالینی^۲ مستلزم انطباق کامل^۳ با استانداردهای کیفیت و تولید^۴ مبتنی بر اصول جاری تولید خوب (cGMP) است. این محصولات تحت شمول مقررات بخش ۳۵۱ قانون خدمات بهداشت عمومی (Health Service Act; HSA 351) قرار می‌گیرند که برای فرآورده‌های سلول‌های سوماتیک و سایر محصولات سلولی با دستکاری گسترده^۵ تدوین شده است، و همچنین مشمول مقررات سازمان غذا و داروی ایالات متحده (FDA) در حوزه فرآورده‌های زیستی و دارویی^۶ می‌باشند.

به دلیل محتوای غنی از فاکتورهای رشد، پروتئین‌ها، هورمون‌ها و سایر ترکیبات زیستی، و نیز میزان نسبتاً پایین گاماگلوبولین، سرم جنین گاوی (FBS) به پرکاربردترین مکمل در محیط‌های کشت سلولی تبدیل شده است. استفاده از FBS با مزایا و معایب مشخصی همراه است. از جمله مزایای استفاده از FBS در کشت سلولی می‌توان به موارد زیر اشاره کرد؛^۱ FBS مجموعه‌ای (cocktail) از اغلب فاکتورهای رشد مورد نیاز برای رشد و تکثیر سلولی را فراهم می‌کند؛^۲ FBS به عنوان یک مکمل رشد تقریباً عمومی^۷ عمل می‌کند که برای اغلب انواع سلول‌ها مؤثر است؛^۳ استفاده از محیط‌های کشت مکمل شده با FBS^۸ نیاز به فعالیت‌های تحقیق و توسعه (R&D) جهت طراحی محیط‌های رشد اختصاصی برای هر نوع سلول را برطرف می‌سازد. معایب استفاده از FBS پیش‌تر در این نوشتار مورد بحث قرار گرفته است؛ این معایب با افزایش ریسک مرتبط با تجویز فرآورده‌های درمانی سلولی برای کاربرد بالینی که در فرآیند تولید خود از FBS استفاده می‌کنند همراه هستند. این وضعیت ایده‌آل محسوب نمی‌شود، به‌ویژه با توجه به این‌که درمان‌های سلولی با کاربرد بالینی باید بر اساس فرآیندهای تولیدی تثبیت شده^۹، قابل بازتولید^{۱۰} و اعتبارسنجی شده^{۱۱} مبتنی بر اصول GMP تولید شوند و با مقررات موجود سازمان غذا و داروی ایالات متحده (FDA)، اتحادیه اروپا (EU)، سازمان جهانی بهداشت (WHO) و سایر الزامات نظارتی مرتبط انطباق داشته باشند.

¹ Commercialization

² Clinical setting

³ Compliance

⁴ Quality and manufacturing standards

⁵ Extensively manipulation

⁶ Biologics and drugs

⁷ Universal cell growth supplement

⁸ FBS-supplemented culture media

⁹ Established

¹⁰ Reproducible

¹¹ Validated



سازمان غذا و دارو

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

اگرچه استفاده از FBS به عنوان مکمل محیط کشت همچنان موضوع بحث است، در حال حاضر این ماده به طور گسترده در کاربردهای پژوهشی و نیز در تولید در مقیاس بالینی طیف وسیعی از فرآورده‌های درمانی سلولی مورد استفاده قرار می‌گیرد. این امر عمدتاً به این دلیل است که جایگزین‌های مؤثر با همان سطح پذیرش گسترده هنوز به طور کامل در دسترس نیستند و در بسیاری از موارد حذف FBS بدون ایجاد تغییرات قابل توجه، در کارایی کشت سلولی عملاً امکان‌پذیر نمی‌باشد (۵).

۴- چارچوب بندی نظارتی محصولات بر پایهٔ سرم، استانداردهای بین المللی، چالش‌ها:

۴-۱- مقایسه راهنماهای مواد جانبی بیولوژیک مورد استفاده در تولید محصولات ژن و سلول درمانی در آسیا

انجمن نوآوری پزشکی بازساختی (FIRM)^۱ یک انجمن صنعتی^۲ در زمینه پزشکی بازساختی در ژاپن است. این انجمن از سال ۲۰۱۸ میلادی، کنفرانس مشارکت آسیایی پزشکی بازساختی (APACRM)^۳ را سازماندهی می‌کند که یک گردهمایی سالانه متشکل از مقامات نظارتی^۴، نمایندگان صنعت^۵ و متخصصان علمی^۶ در حوزه‌های موضوعی متنوع مقرراتی طی چرخه عمر توسعه محصول^۷ و صنعتی سازی پزشکی بازساختی در کشورها و مناطق آسیایی است.

هدف از تشکیل APACRM، ترویج هماهنگی نظارتی میان کشورها و مناطق آسیایی برای ایجاد محیطی ایده‌آل برای کاربرد بالینی پزشکی بازساختی است. هدف مشخص آن، ایجاد بستری واقع‌بینانه برای استقرار چارچوب نظارتی بهینه‌شده در آسیاست. این پلتفرم بین‌المللی می‌بایست با برقراری تعامل میان صنعت و مراجع بهداشتی^۸ به منظور شناسایی چالش‌های مشترک، زمینه‌ساز توسعه درک علمی مشترک از ماهیت پزشکی بازساختی گردد. همچنین انتظار می‌رود این رویداد به تسریع توزیع این فرآورده‌های درمانی پیشرفته در بازارهای آسیایی کمک نماید. انجمن FIRM وظیفه دبیرخانه APACRM را بر عهده گرفته و با گروه‌های صنعتی متعددی از جمله انجمن زیست‌فناوری پزشکی چین^۹، انجمن شرکت‌های پیشرو در زیست‌فناوری هند^{۱۰}، شورای پزشکی بازساختی پیشرفته کره^{۱۱}، انجمن صنایع دارویی سنگاپور^{۱۲} و دفتر توسعه صنایع زیست‌فناوری و دارویی تایوان^{۱۳} همکاری نزدیک داشته است. فعالیت‌های

¹ Forum for Innovative Regenerative Medicine (FIRM)

² Industrial association

³ Asia Partnership Conference of Regenerative Medicine (APACRM)

⁴ Regulators

⁵ Industries

⁶ Scientists

⁷ Life cycle of product development

⁸ Health authorities

⁹ China Medicinal Biotech Association in China

¹⁰ Association of Biotechnology Led Enterprises in India

¹¹ Council for Advanced Regenerative Medicine in Korea

¹² Singapore Association of Pharmaceuticals Industries in Singapore

¹³ Biotechnology and Pharmaceutical Industries Promotion Office in Taiwan

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

FIRM در این APACRM نه تنها توسط وزارت بهداشت، کار و رفاه ژاپن^۱ و سازمان دستگاه‌های پزشکی و دارویی این کشور^۲، بلکه توسط سایر مراجع نظارتی آسیایی^۳ از جمله سازمان مرکزی کنترل استانداردهای دارویی هند^۴، وزارت ایمنی غذا و داروی کره^۵، مرجع علوم بهداشتی سنگاپور^۶ و مرکز ارزیابی دارویی تایوان^۷ حمایت شده است.

گروه کاری شماره ۲ (WG2)^۸ تحت نظارت کنفرانس APACRM، با هدف بررسی و تحقیق در مورد موضوعات مرتبط با کیفیت فرآورده‌های ژن‌درمانی و سلول‌درمانی (CGT)^۹ تأسیس شد. در سال ۲۰۲۰، این گروه مواردی را جهت ارزیابی شرایط احراز صلاحیت سلول‌های استرومال مزانشیمی به عنوان ماده اولیه^{۱۰} و همچنین ارزیابی قابلیت مقایسه‌ای فرآورده‌های مبتنی بر سلول‌های استرومال مزانشیمی قبل و پس از اعمال تغییرات در فرآیند تولید^{۱۱} ارائه نمود. بر اساس این تحقیقات، یک میزگرد تخصصی با حضور مراجع نظارتی آسیایی در کنفرانس APACRM سال ۲۰۲۱ برگزار شد و متعاقباً مقاله‌ای در فوریه ۲۰۲۲ در نشریه Cytotherapy منتشر گردید (۶، ۷). در سال ۲۰۲۲، گروه کاری شماره ۲ (WG2) تحقیقات مقایسه‌ای بیشتری را در مورد مقررات کشورها و مناطق آسیایی به همراه ایالات متحده آمریکا (US)^{۱۲} و اتحادیه اروپا (EU)^{۱۳} در رابطه با مواد بیولوژیکی فرعی (مواد کمکی بیولوژیک) (AMs)^{۱۴} انجام داد. این مواد کمکی در طول فرآیند تولید با مواد سلولی اولیه، محصولات میانی یا محصولات نهایی در تماس هستند اما قرار نیست در فرآورده نهایی ژن‌درمانی و سلول‌درمانی (CGT) حضور داشته باشند. مقاله حاضر مطالعات مقایسه‌ای مقررات در هر کشور یا منطقه آسیایی را خلاصه کرده و علاوه بر این، نکات قابل توجهی که ممکن است از این تفاوت‌های نظارتی ناشی شود را پیشنهاد می‌دهد (۸).

۲-۴- مقایسه گایدلاین‌های نظارتی و فارماکوپه‌ای در ایالات متحده، اتحادیه اروپا و کشورها و مناطق آسیایی

راهنماهای مربوط به مواد کمکی بیولوژیک (AMs)، که به عنوان موادی تعریف می‌شوند که در فرآیند تولید مورد استفاده قرار می‌گیرند، اما در محصول نهایی حضور ندارند، در ایالات متحده، اتحادیه اروپا و آسیا (چین، هند، ژاپن، کره و تایوان) مورد بررسی و دقت قرار گرفته است. به طور کلی راهنماها در این حوزه به دو دسته مستقیم و غیر مستقیم طبقه‌بندی می‌شوند. راهنماهای مستقیم، در اصل دستورالعمل‌هایی است که مستقیماً ملاحظات رگولاتوری و نهادهای نظارتی پیرامون خود مواد کمکی در هر یک از کشورهای مورد مطالعه مورد بررسی قرار می‌دهند. با این حال، راهنماهای غیرمستقیم، نظیر راهنماهای کیفیت درمان‌های ژنی و سلولی (CGT) نیز وجود دارد که در یکی از فصول خود به مواد کمکی اشاره شده است. افزون بر این، استاندارد سازمان بین‌المللی

¹ Ministry of Health, Labor and Welfare and the Pharmaceuticals

² Medical Devices Agency in Japan

³ Asian health authorities

⁴ Central Drugs Standard Control Organization in India

⁵ Ministry of Food and Drug Safety in Korea,

⁶ Health Sciences Authority in Singapore

⁷ Center for Drug Evaluation in Taiwan

⁸ Working group 2

⁹ Cell and gene therapy (CGT)

¹⁰ Starting material

¹¹ Manufacturing process

¹² United States (US)

¹³ European Union (EU)

¹⁴ Ancillary materials (AMs)

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

استانداردسازی^۱ و سری گزارش‌های فنی سازمان جهانی بهداشت^۲ نیز وجود دارند که می‌توانند به عنوان اطلاعات تکمیلی مفید باشند، که البته در این راهنمای حاضر موضوعیت ندارند. در عین حال، نویسندگان، راهنماها را بر اساس اینکه آیا مواد کمکی خاص را در بر می‌گیرند یا خیر، به دو دسته طبقه‌بندی کردند؛ (۱) راهنماهای عمومی که نحوه انجام ارزیابی ریسک برای مواد کمکی^۳ را توضیح می‌دهند (۸-۱۱)، و (۲) راهنماهایی که مواد کمکی خاص، از جمله سرم گاوی، تریپسین و پروتئین‌های نوترکیب را توصیف نموده و مورد دقت قرار می‌دهند (۱۲-۲۴).

۳-۴- راهنماها (گایدلاین‌های) عمومی

ایالات متحده، اتحادیه اروپا، چین و تایوان دارای دستورالعمل‌های کلی برای ارزیابی ریسک‌های مرتبط با مواد کمکی (AMs) با منشأ حیوانی یا انسانی^۴ هستند. این راهنماها معمولاً شامل مواردی از قبیل ارزیابی ریسک سیستماتیک برای مواد فرعی با منشأ بیولوژیک، الزامات qualification و اعتبارسنجی مواد اولیه، راهنمای مستندسازی و ردیابی کامل زنجیره تأمین، پایش و کنترل کیفیت در طول چرخه تولید، ارزیابی ویروس و عوامل عفونت‌زا برای مواد با منشأ جانوری/انسانی هستند. مثال‌هایی مستند از آن شامل، دستورالعمل FDA در زمینه مواد مشتق شده از حیوانات، رهنمودهای EMA در مورد مواد با منشأ انسانی و جانوری، استانداردهای NMPA چین^۵ برای مواد بیولوژیک فرعی، و مقررات TFDA تایوان^۶ در زمینه مواد با منشأ بیولوژیک است. به عنوان مثال، محدوده نظارتی استانداردهای NMPA چین، شامل مواد اولیه بیولوژیک (انسان/حیوان-derived)، الزامات کیفیت برای فرآورده‌های پیشرفته درمانی (CGT)، کنترل کیفیت در فرآیند تولید، و ارزیابی ایمنی و اثربخشی فرآورده می‌باشد. از ویژگی‌های ممتاز استانداردهای NMPA چین، تأکید بر منشأیابی و ردیابی کامل مواد اولیه، الزامات سخت‌گیرانه غربالگری ویروسی برای مواد جانوری، ارزیابی چندمرحله‌ای از بانک سلولی تا محصول نهایی، و سازگاری با استانداردهای ICH (با اعمال ملاحظات خاص چین) است.

حوزه‌های نظارتی اصلی مقررات TFDA تایوان در زمینه مواد با منشأ بیولوژیک، شامل مواد اولیه با منشأ انسانی/حیوانی (Human/Animal-derived Materials)، الزامات کیفیت برای محصولات زیست‌فناوری پزشکی، کنترل ویروس و عوامل انتقال‌پذیر (Viral Safety)، و استانداردهای بانک سلولی و بانک مستر سلول (Cell Bank/Master Cell Bank) می‌باشد. از ویژگی‌های ممتاز مقررات TFDA تایوان در زمینه مواد با منشأ بیولوژیک میتوان به مواردی از قبیل مواد اولیه با منشأ انسانی/حیوانی (Human/Animal-derived Materials)، الزامات کیفیت برای محصولات زیست‌فناوری پزشکی، کنترل ویروس و عوامل انتقال‌پذیر (Viral Safety)، و استانداردهای بانک سلولی و بانک مستر سلول (Cell Bank/Master Cell Bank) اشاره نمود.

¹ International Organization for Standardization standard

² World Health Organization technical report series

³ Risk assessment for AMs

⁴ Animal- or human-derived AMs

⁵ National Medical Products Administration - China

⁶ Taiwan Food and Drug Administration - Biological Source Materials Regulations

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

۴-۴- راهنماهای مربوط به مواد بیولوژیک فرعی خاص

این راهنماهای عموماً مواد مشتق شده از حیوانات (Animal-derived Materials) شامل سرم گاوی (Bovine Serum)، تریپسین (Trypsin)، و کلاژن (Collagen)؛ مواد مشتق شده از انسان (Human-derived Materials) مانند سرم انسانی (Human Serum)، و فاکتورهای رشد (Growth Factors)؛ و همچنین مواد نوترکیب (Recombinant Materials) از قبیل پروتئینهای نوترکیب (Recombinant Proteins)، و فاکتورهای رشد نوترکیب (Recombinant Growth Factors) را شامل میشوند. ملاحظات کلیدی در رهنمودهای مربوط به مواد بیولوژیک فرعی خاص عبارتند از؛ ارزیابی ریسک ویروسی (Viral Risk Assessment)، اعتبارسنجی روشهای حذف/غیرفعالسازی ویروس (Viral Clearance Validation)، مستندسازی منشأیابی (Sourcing Documentation)، و پایش کیفیت در طول تولید (In-process Quality Monitoring).

در ژاپن، سه استاندارد برای مواد انسانی، نشخوارکنندگان^۱ و مواد حیوانی مرتبط با مواد کمکی (AMs)^۲ در "استانداردهای مواد بیولوژیک"^۳ وجود دارد (۱۲). در ایالات متحده، دستورالعمل‌های خاصی برای سرم گاوی USP90 (۱۳) و USP1024 (۱۵)، آنتی بادی‌های مونوکلونال (راهنمای صنعت: آنتی بادی‌های مونوکلونال مورد استفاده به عنوان ری ایجنت در تولید دارو) (۲۱)، تریپسین نوترکیب خوک USP89 (۲۵) و اینترلوکین-۴ نوترکیب انسانی USP92 (۲۴)، تدوین شده است. به طور مشابه، در اتحادیه اروپا، دستورالعمل‌های خاصی برای سرم گاوی EP2262 (۱۳) و EMA/CHMP/BWP/457920/2012 (۱۶)، کنترل حیوانات مرتبط با انسفالوپاتی‌های اسفنجی شکل قابل انتقال (TSE) EP5.2.8 (۱۷) و EP1483 (۲۶) و تریپسین EMA/CHMP/BWP/814397/2011 (۲۰) و EP0694 (۲۷) وجود دارد. چین و تایوان نیز دستورالعمل‌های خاص خود را برای سرم گاوی دارا می‌باشند (فارماکوپه جمهوری خلق چین، جلد سوم، ۳۶۰۴ (۱۹) و فارماکوپه تایوان نسخه ۹، ۵۰۹۴ (۲۰)). هند و کره فاقد دستورالعمل‌های مستقل ویژه برای مواد کمکی هستند.

۴-۵- ارزیابی ریسک^۴

استفاده از مواد بیولوژیک فرعی (AMs) تأثیر قابل توجهی بر کیفیت (quality)، ایمنی (safety) و اثربخشی (efficacy) محصولات ژن و سلول درمانی (CGTs) داشته و می‌بایست توسط توسعه‌دهندگان (developers) و تولیدکنندگان (manufacturers) با هدف نهایی محافظت از بیماران، به دقت مورد ارزیابی قرار گیرد. هیچ اقدام واحد یا ترکیبی از اقدامات نمی‌تواند به تنهایی کیفیت، عملکرد (functionality) و ایمنی AMs را برای استفاده مورد نظر تضمین نماید. بنابراین، یک ارزیابی ریسک جامع^۵ باید منشأ

^۱ Ruminant and animal materials relevant to AMs

^۲ Animal materials relevant to AMs

^۳ Standards for Biological Materials

^۴ Risk assessment

^۵ overall risk assessment

سازمان غذا و دارو

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

بیولوژیک^۱ و قابلیت ردیابی^۲ AMS، مراحل تولید اعمال شده و توانایی فرآیند تولید CGT در کنترل یا حذف AMS از محصول دارویی نهایی را مطابق با استاندارد EP5.2.12 (۹) در نظر بگیرد. USP1043 (۸) نیز اشاره می‌کند که به عنوان بخشی از فرآیند ارزیابی ریسک، یک برنامه qualification منطقی و علمی برای هر AM باید طراحی شود، و برنامه‌های qualification برای AMS می‌بایست بازرسی دقیقی^۳ را که این مواد در طول توسعه و تولید تحت آن قرار گرفته‌اند، منعکس کنند. ارزیابی ریسک همچنین باید مقدار AMS استفاده شده، مرحله استفاده از AMS در فرآیند تولید و مقدار باقیمانده AMS در محصول نهایی CGT را نیز مد نظر قرار دهد.

جدول. دسته‌بندی‌های ریسک انواع مواد کملی در ایالات متحده و چین.

Risk category USP1043		Pharmacopeia of the People's Republic of China, Volume III		
1 (lowest)	Highly qualified material, such as licensed biologic, drug or medical device	Recombinant insulin for injection Human serum albumin for injection Injectable monoclonal antibodies	Biological drugs or sterile preparations that have obtained marketing authorization	Human albumin injection
2 (low)	Well-characterized material produced under an established quality system, but AM is not a licensed or approved medical product	Recombinant growth factors, cytokines produced (non-mammalian, recombinant sources) Human AB serum Proteolytic enzymes	Chemical raw materials or animal origin-free, pharmaceutical-grade protein hydrolases produced in accordance with China's "current GMP"	Pharmaceutical-grade protein hydrolases from non-animal sources
3 (moderate)	Intended for research use, locally produced under laboratory conditions or not intended for use in CGT product manufacturing	Recombinant growth factors, cytokines Monoclonal antibodies Proteolytic enzymes	Produced, not intended for use as pharmaceutical substance	Protein hydrolases from non-animal sources Monoclonal antibodies
4 (high)	Produced for industrial or research use and may contain harmful impurities and/or may contain animal- or human-derived components harboring adventitious agents	Animal- and human-derived materials Purified enzymes Animal or human cells used as feeder layers	Toxic chemical entities with known biological mechanism and most animal-derived tissues and body fluids with complex components	Bovine sera Animal-derived enzymes Ascites-derived antibodies or proteins

محصولات بیولوژیک^۴ و داروهای دارای مجوز دارای کمترین ریسک در نظر گرفته می‌شوند. با این حال، به کارگیری آن‌ها به عنوان مواد کملی (AMS) ممکن است خارج از دامنه کاربرد مورد نظر باشد؛ بنابراین، تناسب آن‌ها به عنوان مواد کمکی نیازمند تأیید صلاحیت دقیق^۵ در فرآیند تولید محصول CGT است (طبق USP1043) (۸). اصولاً مواد کمکی که به خوبی مشخصه‌یابی شده‌اند، و تحت یک سیستم کیفی منطبق بر اصول تولید خوب فعلی [GMP] تولید شده باشند، در رده دومین کمترین ریسک^۶ طبقه‌بندی می‌شوند. اگرچه این مواد کمکی ممکن است با برچسب "درجه بالینی"^۷ یا "درجه GMP"^۸ ارائه شوند، اما تولیدکنندگان محصولات CGT در نهایت مسئولیت اطمینان از اینکه این مواد کمکی، الزامات عملکردی^۹، کیفی^{۱۰} و مستندسازی^{۱۱} مورد نیاز مقامات نظارتی^{۱۲} ذی‌ربط را برآورده می‌سازند، بر عهده دارند (طبق USP1043). پروتئین‌های نو ترکیب، از جمله آنتی‌بادی‌هایی که در طی فرآیند تولید

¹ biological origin

² traceability

³ Extensive scrutiny

⁴ Licensed biologics

⁵ Careful qualification

⁶ Second lowest risk

⁷ Clinical-grade

⁸ GMP-grade

⁹ Functional requirements

¹⁰ Quality requirements

¹¹ Documentation requirements

¹² Regulatory authorities

سازمان غذا و دارو

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

فرآورده‌های CGT کاربرد ندارند، عمدتاً دارای ریسک متوسط^۱ هستند. مشخصه‌یابی و ارزیابی این مواد کمکی برای عوامل ناخواسته^۲ مرتبط با رده‌های سلولی و متریال‌های مورد استفاده در تولید، نسبتاً ساده است. مواد کمکی مشتق شده از بافت‌ها و مایعات حیوانی/انسانی^۳، که اجزای آن‌ها پیچیده است و به اندازه کافی شناخته شده نیست، دارای بالاترین ریسک در نظر گرفته می‌شوند. سرم گاوی، آنتی‌بادی‌ها، آنزیم‌ها و سلول‌های حیوانی/انسانی مورد استفاده به عنوان لایه فیدر (تغذیه کننده)^۴ در این دسته قرار می‌گیرند. برای این دسته از مواد کمکی، پیش از استفاده در ساخت CGT‌ها ممکن است به تأیید صلاحیت گسترده و کیفی‌سازی^۵ نیاز است یا ممکن است مراحل پردازش اضافی^۶ مورد نیاز باشد، که عبارتند از (۱) ارتقای فرآیند تولید مواد کمکی^۷ مورد اشاره؛ (۲) تیمار مواد کمکی طی فرآیندهایی، جهت غیرفعال‌سازی یا حذف عوامل ناخواسته^۸، مواد بیماری‌زا^۹ یا آلاینده‌های خاص^{۱۰}؛ و (۳) انجام آزمون‌های تکمیلی بر روی هر دسته (Lot) از مواد کمکی برای اهداف کنترل کیفیت. یک راه جایگزین، اعتبارسنجی کامل حذف (remove) یا غیرفعال‌سازی (inactivation) این مواد کمکی و عوامل ناخواسته بالقوه مرتبط با فرآیند تولید CGT است.

جدول. راهنماهای اختصاصی در خصوص مواد کمکی (AMs).

¹ Moderate risk
² Adventitious agents
³ Animal/human tissues and fluids
⁴ Feeder layers
⁵ Extensive qualification

⁶ Additional processing steps
⁷ Upgrading the AM manufacturing process
⁸ adventitious agents
⁹ Disease-causing substances
¹⁰ Specific contaminants

سازمان غذا و دارو

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

Scope of material		Country/ region	Guidelines
General		US	USP1043
		EU	EP5.2.12
Human origin Animal origin		China	Pharmacopeia of the People's Republic of China, Volume III
		Taiwan	Taiwan Pharmacopeia v.9 5040
		Japan	Standards for Biological Materials
		Japan	Standards for Biological Materials
		Japan	Standards for Biological Materials
		US	USP90
		US	USP1024
		EU	EP2262
		EU	EMA/CHMP/BWP/457920/2012 rev 1
		EU	EP5.2.8 (identical to EMA/410/01 rev 3)
		EU	EP1483
		China	Pharmacopeia of the People's Republic of China, Volume III, 3604
		Taiwan	Taiwan Pharmacopeia v.9 5094
		EU	EMA/CHMP/BWP/814397/2011
		EU	EP0694
		Japan	Standards for Biological Materials
		Japan	Standards for Biological Materials
		US	Guidance for Industry
		US	USP89
		US	USP92

- a) Standards for Biological Materials are supported by the implementation guideline(28).
b) Refers practically to EP5.2.8 (17).
c) Applies to recombinant proteins using human or animal cell lines.

<USP1043>

<USP1043> که با عنوان کامل "Ancillary Materials for Cell, Gene, and Tissue-Engineered Products" (مواد کمکی برای محصولات سلول، ژن و مهندسی شده بافت) شناخته می‌شود، یک فصل بسیار مهم و حیاتی از کتاب فارماکوپه ایالات متحده (United States Pharmacopeia) است. این فصل به طور خاص به مواد کمکی (Ancillary Materials - AMs) می‌پردازد که در تولید محصولات درمان‌های پیشرفته (مانند درمان‌های بر پایه سلول و ژن) استفاده می‌شوند اما در محصول نهایی حضور ندارند. در اصل

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

<USP 1043>، نقشه راهی برای مدیریت ایمن و علمی موادی است که در ساخت درمانهای پیشرفته دارویی استفاده می‌شوند اما در داروی نهایی وجود ندارند.

<USP 1043>، مواد کمکی موادی هستند که در فرآیند تولید (مانند جداسازی، خالص‌سازی، کشت سلول، یا فعال‌سازی سلول‌ها) استفاده می‌شوند، اما در محصول نهایی (دارو یا درمان) باقی نمی‌مانند. اگرچه در محصول نهایی نیستند، اما می‌توانند بر کیفیت، ایمنی و اثربخشی محصول تأثیر بگذارند. مثال‌های آن شامل سرم، تریپسین، سیتوکاین‌ها و آنتی‌بادی‌ها است. یکی از مهم‌ترین بخش‌های این فصل، طبقه‌بندی مواد کمکی بر اساس سطح ریسک آن‌هاست. این طبقه‌بندی به تولیدکنندگان کمک می‌کند تا میزان کنترل و تست‌های لازم را تعیین کنند:

ریسک پایین (Low Risk): شامل مواد بیولوژیک و داروهای دارای مجوز (Licensed) است. اگرچه این مواد ایمن هستند، اما استفاده از آن‌ها خارج از دامنه کاربرد اصلی‌شان نیاز به ارزیابی دارد.

ریسک متوسط (Moderate Risk): شامل پروتئین‌های نوترکیب (مانند آنتی‌بادی‌ها یا سیتوکاین‌های نوترکیب) است. این مواد به خوبی مشخصه‌یابی شده‌اند و کنترل آن‌ها نسبتاً آسان است.

ریسک بالا (High Risk): شامل مواد مشتق شده از خون یا بافت‌های حیوانی/انسانی (مانند سرم گاوی، تریپسین حیوانی، یا سلول‌های فیدر) است. این مواد پیچیده هستند و ممکن است حامل عوامل بیماری‌زا (مانند ویروس‌ها یا پریون‌ها) باشند و نیاز به کنترل‌های شدید دارند.

فصل <USP 1043>، راهنمایی‌های عملی برای مدیریت این مواد ارائه می‌دهد:

تأیید صلاحیت (Qualification): تولیدکننده باید نشان دهد که ماده کمکی انتخاب شده برای کاربرد خاص مناسب است و کیفیت محصول را به خطر نمی‌اندازد.

سیستم کیفیت (Quality System): تأکید بر اینکه مواد باید تحت سیستم‌های کیفی معتبر (مانند GMP) تولید شوند.

کنترل منشأ (Source Control): اهمیت انتخاب منابع ایمن (به ویژه برای مواد حیوانی جهت جلوگیری از بیماری‌های TSE).

تست‌های ایمنی: انجام تست‌های لازم برای اثبات عدم وجود آلودگی‌های ویروسی یا میکروبی.

EP 5.2.12

EP 5.2.12، بخشی از فارماکوپه اروپا (European Pharmacopoeia) است که به طور خاص به الزامات کیفی برای مواد بیولوژیک فرعی (Ancillary Materials - AMs) مورد استفاده در تولید محصولات دارویی به ویژه فرآورده‌های ژن‌درمانی و سلول‌درمانی (CGTs) می‌پردازد. این استاندارد به عنوان مرجع ایمنی در تولید محصولات پیشرفته درمانی در اتحادیه اروپا شناخته می‌شود و عدم رعایت آن منجر به رد محصول در مراحل نظارتی می‌گردد.

سازمان غذا و دارو

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

محورهای اصلی EP 5.2.12 عبارتند از:

منشأ یابی و ردیابی مواد اولیه: تأکید بر مستندسازی کامل منشأ مواد بیولوژیک فرعی (انسانی، حیوانی، نو ترکیب)، و همچنین الزام به ارائه گواهی‌های سلامت و ایمنی (مانند گواهی عاری از TSE برای مواد جانوری) دارد.

ارزیابی ریسک سیستماتیک: تحلیل خطرات مرتبط با آلودگی‌های ویروسی، پریونی، یا میکروبی، و توجه به میزان باقیمانده مواد فرعی در محصول نهایی را در بردارد.

کنترل فرآیند تولید: اثبات توانایی فرآیند تولید در حذف یا کاهش مواد فرعی تا سطح مجاز، و همچنین اعتبارسنجی روش‌های پاکسازی (مانند فیلتراسیون، کروماتوگرافی)، را شامل می‌شود.

پایش کیفیت محصول نهایی: که تست‌های اختصاصی برای شناسایی باقیمانده مواد فرعی، و تعیین حد مجاز آن بر اساس مطالعات سم‌شناسی را شامل می‌شود.

یک مثال عینی از کاربرد EP 5.2.12 برای سرم گاوی، اثبات عدم آلودگی به ویروس‌های Bovine Viral Diarrhea (BVD) یا پریون‌های عامل TSE، است. در مقایسه با استانداردهای دیگر (مثل USP)، EP 5.2.12 تأکید بیشتری بر منشأ اروپایی مواد اولیه و انطباق با دستورالعمل‌های EMA داشته، در مقابل، USP <1043> (ایالات متحده) بر روش‌های تحلیلی و حد مجاز باقیمانده مواد فرعی تمرکز می‌کند.

سرم گاوی و تریپسین:

سرم گاوی و تریپسین خوک^۱ به طور گسترده به عنوان اجزای محیط کشت سلولی در تولید محصولات ژن و سلول درمانی (CGT) مورد استفاده قرار می‌گیرند. همانند سایر مواد با منشأ جانوری، کیفیت این مواد می‌تواند خطراتی برای کیفیت، اثربخشی و ایمنی محصولات CGT ایجاد کند. به طور خاص، مواد با منشأ جانوری خطر آلودگی با عوامل آلوده‌کننده تصادفی (adventitious agents) را به همراه دارند. علاوه بر این، به دلیل نشخوارکننده بودن گاوها (حیوانات مرتبط با TSE)، خطر ابتلا به انسفالوپاتی‌های اسفنجی شکل قابل انتقال (TSE) مانند انسفالوپاتی اسفنجی شکل گاوی (BSE) وجود دارد.

الزامات مربوط به سرم گاوی و تریپسین خوک به عنوان مواد بیولوژیک فرعی (AMs) در ایالات متحده (US)، اتحادیه اروپا (EU) و آسیا (Asia) در جدول زیر خلاصه شده است.

جدول. مقایسه الزامات مربوط به سرم گاوی و تریپسین خوک در ایالات متحده، اتحادیه اروپا و آسیا

¹ Porcine trypsin

سازمان غذا و دارو

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

Country/region	China	Japan		Taiwan	US		EU		EU	
Material	BS	Animal	Ruminant	BS	BS		BS		PT	
Guideline	CP ^a	St. 4, 3 ^b	St. 4, 1 ^c	TP ^d	USP90	USP1024	EMA GL ^e	EP2262	EP5.2.8	EMA GL ^f
Starting material										
Healthy animal		✓		✓		✓	✓	✓	✓	✓
Collection			✓ ^g	✓		✓		✓ ^h	✓	
Virus inactivation/removal										
Applying the process		✓		✓		✓	✓	✓	✓	
Validation		✓ ⁱ				✓	✓	✓	✓	
Condition		✓		✓		✓	✓	✓	✓	
Quality control										
Safety tests	✓			✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
General tests	✓				✓	✓	✓	✓		✓
Storage					✓	✓		✓		✓
Labeling					✓	✓		✓		✓
Traceability										
Record		✓	✓	✓		✓	✓	✓	✓	
COA		✓ ^j		✓		✓	✓	✓	✓	
COO			✓ ^k		✓ ^l	✓	✓	✓	✓	
TSE risk										
Geographical sourcing			✓			✓			✓	
Animal parts			✓						✓	
Age						✓ ^l			✓ ^m	
Risk assessment			✓	✓		✓			✓	

BS, bovine serum; BSE, bovine spongiform encephalopathy; COA, certificate of analysis; COO, certificate of origin; PT, porcine trypsin; Q&A, question and answer; TSE, transmissible spongiform encephalopathy.

^a Pharmacopeia of the People's Republic of China, Volume III, 3604

^b Standard for Animal Materials

^c Standard for Ruminant Materials

^d Taiwan Pharmacopeia v.9 5094

^e EMA/CHMP/BWP/457920/2012 rev 1

^f EMA/CHMP/BWP/814397/2011

^g Information for "procedures for collection of animal cell/tissue material" must be recorded for ruminant-derived materials.

^h It is described that "further guarantee of the safety and quality of serum may be ensured by the use of a controlled donor herd."

ⁱ It is recommended to refer to ICH-Q5A for inactivation/removal process assessment in the implementation guideline (PFSB/ELD No. 1002-1, PFSB/ELD/OMDE No. 1002-5, October 2, 2014) and Q&A (June 30, 2015).

^j "A copy of certificate" is described as an example of the records in "8. Miscellaneous" in the implementation guideline (PFSB/ELD No. 1002-1, PFSB/ELD/OMDE No. 1002-5, October 2, 2014)

^k Indicating "country of origin on product labeling" is described as an additional requirement.

^l It is described that "BSE infectivity may increase with animal age. Although bovine serum is considered a low-risk material for TSE transmission, some end users consider it prudent to source serum from dams below a set maximum age"

^m It is described that "as the TSE infectivity accumulates in bovine animals over the incubation period of several years, it is prudent to source from young animals," etc.

در مورد سرم گاوی در ایالات متحده و اتحادیه اروپا (EU)، الزامات مربوط به منبع‌یابی (sourcing)، تولید (production)، مشخصه‌یابی (characterization)، ردیابی (traceability)، اعطاء گواهی (certification)، تست عوامل آلوده‌کننده تصادفی (عوامل ناخواسته) (adventitious agents)، سمیت مادهٔ کمکی برای رشد سلولی (toxicity to cell growth)، غیرفعال‌سازی/حذف ویروسی

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

و/یا ارزیابی خطر BSE در فارماکوپه ایالات متحده (USP90 (۱۳) و USP1024 (۱۴)، فارماکوپه اروپا (EP2262 (۱۵) و EP5.2.8 (۱۷) و راهنماهای اتحادیه اروپا (EMA/CHMP/BWP/457920/2012 (۱۶) شرح داده شده است. در مورد تریپسین خوکی در اتحادیه اروپا، الزامات مربوط به منبع‌یابی، تولید، آزمون عوامل آلوده‌کننده تصادفی، غیرفعال‌سازی/حذف ویروسی، کنترل کیفیت و ارزیابی خطر تریپسین خالص‌شده از غدد پانکراس خوکی در رهنمودهای اتحادیه اروپا (EMA/CHMP/BWP/814397/2011 (۲۲) بیان شده است و مشخصه‌یابی لازم برای تریپسین استخراج‌شده از پانکراس پستانداران در فارماکوپه اروپا EP0694 (۲۷) شرح داده شده است. در ایالات متحده هیچ شرط و مقرره‌ای^۱ در مورد تریپسین خوکی وجود ندارد.

در آسیا، الزامات مربوط به منبع‌یابی، تولید و/یا مشخصه‌یابی سرم گاوی در فارماکوپه جمهوری خلق چین، جلد سوم، ۳۶۰۴^۲ (۱۹) و فارماکوپه تایوان نسخه ۹، ۵۰۹۴^۳ (۲۰) شرح داده شده است. با این حال، در سایر کشورهای آسیایی هیچ مقرره‌ای در مورد استفاده از سرم گاوی یا تریپسین خوکی وجود ندارد. ژاپن از "استاندارد مواد جانوری (حیوانی) در استانداردهای مواد بیولوژیک"^۴ (۱۲) پیروی می‌کند که شامل تمام مواد با منشأ جانوری از جمله سرم گاوی و تریپسین خوکی می‌شود. علاوه بر این، "استاندارد مواد نشخوارکنندگان در استانداردهای مواد بیولوژیک"، الزامات مربوط به منبع‌یابی و ردیابی مواد اولیه (raw materials) مشتق شده از حیوانات دارای ریسک TSE، از جمله سرم گاوی را شرح می‌دهد.

نکات کلی که باید در نظر گرفته شوند عبارتند از: (۱) ردیابی (tracability)، (۲) مراحل غیرفعال‌سازی/حذف ویروس در فرآیند تولید و (۳) آزمون کیفیت و گواهی آنالیز (COA) برای سرم گاوی و تریپسین خوکی.

ردیابی از مواد اولیه (starting materials) تا محصولات ماده اولیه نهایی^۵، باید با مدارک مناسب^۶، گواهی مبدأ^۷ و وضعیت سلامت حیوان^۸ تأیید شود. توصیفات مفصلی درباره انتخاب حیوانات و/یا جمع‌آوری مواد اولیه (starting materials) در فارماکوپه‌های ایالات متحده، اروپا و تایوان فهرست شده است.

در اصل، لازم است در طول فرآیندهای تولید این مواد در ایالات متحده، اتحادیه اروپا، تایوان و ژاپن، از مراحل تأییدشده غیرفعال‌سازی/حذف استفاده شود. نمونه‌هایی از روش‌ها مانند فیلتراسیون (filtration)، پرتودهی گاما^۹ (برای مثال، بزرگتر از ۲۵ کیلوگری^{۱۰} (۱۴، ۲۰) یا بزرگتر از ۳۰ کیلوگری^{۱۱} (۱۵) برای سرم گاوی و بزرگتر از ۳۰ کیلوگری (۲۲) برای تریپسین خوکی)، پرتودرمانی فرابنفش^{۱۲} و/یا غیرفعال‌سازی حرارتی^{۱۳} (برای مثال دمای بالاتر از ۵۶ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه (۱۴، ۲۰) برای سرم گاوی) در راهنماهای اشاره شده نشان داده شده است.

¹ Stipulation

² Pharmacopeia of the People's Republic of China, Volume III, 3604

³ Taiwan Pharmacopeia v.95094

⁴ Standard for Animal Materials in the Standards for Biological Materials

⁵ Final raw material products

⁶ Appropriate records

⁷ Certificate of origin

⁸ Animal health status

⁹ Gamma irradiation

¹⁰ >25 kGy

¹¹ >30 kGy

¹² Ultraviolet treatment

¹³ Heat inactivation

سازمان غذا و دارو

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

برای آزمون کیفیت (Quality testing) و گواهی تحلیل (COA) سرم گاوی و تریپسین خوکی، ایالات متحده، اتحادیه اروپا، چین و تایوان نمونه‌هایی از روش‌های آزمون (جدول زیر) برای استریلیتی، مایکوپلاسما و آلودگی‌های ویروسی ارائه داده‌اند (۲۰۱۳).

جدول. نمونه‌هایی از روش‌های آزمون برای سرم گاوی و تریپسین خوکی که در راهنماها یا فارماکوپه‌های ایالات متحده، اتحادیه اروپا و آسیا ذکر شده است.

Country/region		China	Taiwan	US		EU		EU	
Material		BS	BS	BS		BS		PT	
Guideline		CP ^a	TP ^b	USP90	USP1024	EMA GL ^c	EP2262	EMA GL ^d	EP0694
Tests for adventitious agents	Sterility	✓	✓		✓	✓	✓	✓	✓
	Mycoplasma	✓	✓		✓	✓	✓	✓	✓
	General tests for virus	✓	✓		✓ ^e	✓ ^e	✓ ^e	✓	✓
	Specific tests for virus		✓		✓	✓	✓	✓ ^h	
Characterization	Identification ^f			✓	✓		✓		
	Hemoglobin	✓		✓	✓		✓		
	Chemical profile				✓		✓		
	Endotoxin	✓		✓	✓		✓		
	pH	✓		✓					✓
	Osmolality	✓		✓	✓		✓		
	Total protein	✓		✓	✓		✓		
	Cell growth properties ^g	✓		✓	✓	✓			
	<i>In vitro</i> cytotoxicity				✓				
	Other								✓

BS, bovine serum; PT, porcine trypsin; TAMC, Total aerobic microbial count; TYMC, total combined yeast/moulds count.

^a Pharmacopeia of the People's Republic of China, Volume III, 3604

^b Taiwan Pharmacopeia v.9 5094 Annex II

^c EMA/CHMP/BWP/457920/2012 rev 1

^d EMA/CHMP/BWP/814397/2011

^e Should be performed by inoculation of serum on at least two distinct detector cell lines, one of which is of bovine origin.

^f Includes confirmation by electrophoretic pattern and immunochemical methods such as radial immunodiffusion.

^g Tests include FBS functionality tests, growth promotion curve, clonal assay and *in vitro* cytotoxicity.

^h Specific consideration should be given to widely distributed viruses that are difficult to inactivate (e.g., porcine circovirus and porcine parvovirus) and have zoonotic potential (e.g., hepatitis E virus).

ⁱ Tests for microbial contamination, including TAMC, TYMC and absence of *Escherichia coli* and *Salmonella*, are listed.

^j Tests for the appearance of trypsin solution, specific absorbance, chymotrypsin, loss on drying and trypsin activity are described.

جزئیات مربوط به الزامات خاص آزمون ویروسی^۱ در ایالات متحده، اتحادیه اروپا و تایوان در جدول زیر نشان داده شده است. نمونه‌هایی از روش‌های مشخصه‌یابی، از جمله شناسایی (identification) و عملکرد مواد (functionality of materials)، نیز در این راهنماها مورد بحث قرار گرفته‌اند (۱۳-۱۶، ۱۹). سرم گاوی از طریق فعالیت‌های بیولوژیک پیچیده بر کشت سلول اثر می‌گذارد؛ بنابراین، مشخصه‌یابی آن برای تضمین کیفیت الزامی است.

¹ Virus testing requirements

سازمان غذا و دارو

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

جدول. فهرست ویروس‌های مورد آزمون در سرم گاوی بر اساس کشور و منطقه

Country/region Material Guideline	Taiwan BS Tp ^a	US BS USP1024	EU BS EP2262
<i>Bovine viral diarrhea virus</i>	✓	✓	✓
<i>Bovine parvovirus</i>	✓	✓	✓
<i>Bovine adenovirus</i>	✓	✓	✓
<i>Bluetongue virus</i>	✓	✓	✓
<i>Bovine respiratory syncytial virus</i>	✓	✓	✓
<i>Rabies virus</i>	✓	✓	✓
<i>Reovirus</i>	✓	✓	✓
Other viruses (if necessary)	✓	✓	✓ ^b
<i>Akabane</i>		✓	
<i>Bovine herpesvirus 1</i>	✓	✓	
<i>Parainfluenza 3 virus</i>	✓	✓	
<i>Bovine leukemia</i>	✓	✓	
<i>Bovine rotavirus</i>	✓	✓	
<i>Bovine circovirus</i>	✓	✓	
<i>Bovine polyomavirus</i>	✓	✓	
<i>Coronavirus</i>	✓	✓	
<i>Torovirus</i>	✓	✓	
<i>Bovine enterovirus</i>	✓	✓	
<i>Bovine astrovirus</i>	✓	✓	
<i>Foot-and-mouth disease virus</i>	✓	✓	
<i>Rinderpest</i>	✓	✓	

BS, bovine serum.

^a Taiwan Pharmacopeia v.9 5094 Annex II

^b It is described that "depending on the country of origin, specific tests for other viruses may be needed."

در نهایت، باید خاطرنشان کرد که الزام بنیادین و مشترک برای سرم گاوی، به حداقل رساندن ریسک BSE است. علی‌رغم این که سرم گاوی خطر TSE پایینی دارد، در اصل باید منشأ جانوری آن از کشورها یا مناطقی تأمین شود که خطر BSE ندارند یا خطر آن پایین است (طبق USP <1024> (۱۴) یا خطر BSE در آن‌ها ناچیز^۱ است (که به عنوان "دسته A" توسط سازمان جهانی بهداشت دامی طبقه‌بندی شده است^۲ (طبق EP5.2.8 (۱۷) و استاندارد مواد نشخوارکنندگان (۱۲))، و خون باید بدون آلودگی متقاطع از سایر بافت‌های با عفونت‌پذیری بالا (طبق USP1024 (۱۴) و EP5.2.8 (۱۷)) و با استفاده از رویه‌های مناسب (طبق USP1024 (۱۴)، EP2262 (۱۵)، و فارماکوپه تایوان نسخه ۹، ۵۰۹۴ (۲۰)) جمع‌آوری گردد.

از آنجا که در حال حاضر هیچ روش معتبر و در دسترس برای غربالگری روتین پیش از ذبح حیوانات بدون علامت و غیرفعال‌سازی/حذف عوامل TSE وجود ندارد (طبق USP1024)، راهبردهای ارزیابی ریسک (risk assessment) و کاهش ریسک (risk reduction) برای مواد مشتق شده از حیوانات دارای ریسک TSE حیاتی هستند.

^۱ Negligible BSE risk

^۲ "Category A" by the Office International des Epizooties

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

۴-۶- آشنایی با مقررات مواد کمکی (فرعی، Ancillary Materials – AMs) در کشورها و مناطق آسیایی

طبق ضمیمه B2 (Annex 2B) راهنمای "تولید مواد و محصولات دارویی زیستی برای مصارف انسانی"^۱، که به عنوان بخشی از مجموعه الزامات Good Manufacturing Practice (GMP) در اتحادیه اروپاست که به‌طور خاص به کنترل و تضمین کیفیت در تولید مواد مؤثره و محصولات زیستی انسانی مانند واکسن‌ها، فرآورده‌های خونی، محصولات مشتق از سلول‌ها و پروتئین‌های نوترکیب می‌پردازد، منشأ، منبع و مناسب بودن مواد اولیه زیستی (starting materials) و مواد خام (raw materials) (برای مثال: مواد محافظ انجمادی (cryoprotectants)، سلول‌های فیدر، معرف‌ها، محیط‌های کشت، بافرها، سرم، آنزیم‌ها، سیتوکین‌ها و فاکتورهای رشد) باید به‌طور شفاف مشخص و تعریف شده باشند. در مواردی که انجام آزمون‌های لازم زمان‌بر است، ممکن است پردازش مواد اولیه پیش از در دسترس بودن نتایج آزمون‌ها مجاز باشد؛ با این حال، ریسک استفاده از ماده‌ای که احتمال مردود شدن آن وجود دارد و نیز تأثیر بالقوه آن بر سایر بچه‌ها باید به‌طور کامل درک شده و بر اساس اصول مدیریت ریسک کیفیت (Quality Risk Management; QRM) مورد ارزیابی قرار گیرد. در چنین شرایطی، آزادسازی محصول نهایی (finished product) منوط به رضایت‌بخش بودن نتایج این آزمون‌ها خواهد بود. شناسایی و احراز هویت تمامی مواد اولیه باید مطابق با الزامات متناسب با مرحله ساخت انجام شود.

خطر آلودگی مواد اولیه و مواد خام در طول زنجیره تأمین (supply chain) باید مورد ارزیابی قرار گیرد و در این ارزیابی باید توجه ویژه‌ای به خطر انسفالوپاتی‌های اسفنجی‌شکل قابل انتقال (TSE) معطوف شود. همچنین موادی که به‌طور مستقیم با تجهیزات تولید (manufacturing equipment) یا با خود محصول تماس پیدا می‌کنند- مانند محیط‌های مورد استفاده در آزمایش‌های مدیافیل (media fill) و روانکارهایی (lubricants) که ممکن است با محصول تماس داشته باشند- نیز باید در این ارزیابی مدنظر قرار گیرند. با توجه به اینکه ریسک ورود آلودگی و پیامدهای آن بر محصول نهایی در هر مرحله از تولید یکسان است، ایجاد یک استراتژی کنترلی برای حفاظت از محصول و همچنین برای تهیه محلول‌ها، بافرها و سایر افزودنی‌ها باید بر اساس اصول و رهنمودهای معین انجام شود. اهمیت کنترل‌های مربوط به کیفیت مواد اولیه و مواد خام و نیز فرآیند تولید آسپتیک، به‌ویژه برای محصولات استریل‌سازی نهایی برای آن‌ها امکان‌پذیر نیست، افزایش می‌یابد.

¹ Annex 2B Manufacture of biological medicinal substances and products for human use

را با توجه به ویژگی‌های خاص فرایندهای زیستی GMP این ضمیمه اصول عمومی شامل کنترل منبع مواد اولیه زیستی، جلوگیری از آلودگی مقاطع، اعتبارسنجی

فرایندهای آسپتیک و تضمین قابلیت ردیابی مواد — به‌صورت اختصاصی برای محصولات زیستی انسانی تفسیر می‌کند.



سازمان غذا و دارو

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

در مواردی که در پرونده درخواست مجوز انجام کارآزمایی بالینی (Clinical Trial Application; CTA) یا در پرونده مجوز بازاریابی / مجوز عرضه دارو (پروانه ورود به بازار) (Marketing Authorisation; MA)، نوع و حد مجاز بار میکروبی (bioburden) تعیین و تأیید شده باشد (برای مثال در مرحله تولید ماده مؤثره دارویی (Active Substance)، استراتژی کنترلی باید به گونه‌ای طراحی و اجرا شود که چگونگی حفظ این سطح از بار میکروبی در حدود تعیین شده را به وضوح مشخص کرده و تضمین نماید. در همین راستا، اهمیت کنترل‌های مربوط به کیفیت مواد اولیه و مواد خام و نیز فرآیند تولید آسپتیک، به ویژه برای محصولات که استریل‌سازی نهایی برای آن‌ها امکان‌پذیر نیست، افزایش می‌یابد.

برای برخی از مواد کمکی فرایندی (مورد استفاده در طی فرآیند تولید محصول نهایی) (Ancillary Materials; AMs) مانند سرم گاوی و تریپسین خوک، در تعدادی از کشورها و مناطق، دستورالعمل‌های اختصاصی تدوین شده است. استفاده از مواد کمکی منطبق با این دستورالعمل‌ها در تولید محصولات درمان‌های سلولی و ژنی (CGT) می‌تواند در چارچوب ارزیابی ریسک با هدف حفاظت از بیمار به عنوان یک توجیه علمی قوی مطرح شود. با این حال، دستورالعمل‌های موجود تنها برای تعداد محدودی از مواد کمکی در برخی کشورها و مناطق در دسترس هستند و در سطح کشورهای و مناطق آسیایی مقررات هماهنگ و مشترکی برای مواد کمکی خاص وجود ندارد.

از آنجا که نگرانی‌های مرتبط با خطرات مواد کمکی ممکن است میان کشورها یا مناطق مختلف متفاوت باشد- برای مثال خطر بروز انسفالوپاتی‌های اسفنجی‌شکل قابل انتقال (TSE) در سرم گاوی یا خطر آلودگی به ویروس‌های بومی یک منطقه در مواد با منشأ انسانی- هر کشور یا منطقه ممکن است بر اساس تجربیات و داده‌های انباشته شده خود، با سرعت متفاوتی نسبت به تدوین یا بازنگری دستورالعمل‌ها اقدام کند. از این رو، اتخاذ رویکردی مبتنی بر ارزیابی ریسک که در آن منشأ زیستی و قابلیت ردیابی مواد کمکی، مراحل مختلف تولید و کنترل‌های کیفی در طول فرآیند تولید محصولات CGT مدنظر قرار گیرد، از اهمیت بیشتری برخوردار می‌شود.

در عین حال توصیه شده است که به منظور کاهش خطرات مرتبط با سرم گاوی و تریپسین خوک و همچنین ساده‌سازی فرآیند ارزیابی ریسک، تا حد امکان از محیط‌های کشت تعریف شده فاقد سرم (defined serum-free media) و تریپسین نو ترکیب استفاده شود؛ مشروط بر آنکه تأثیر این جایگزینی‌ها بر کیفیت، اثربخشی و ایمنی محصولات CGT به‌طور مناسب ارزیابی و تأیید شود.

۱-۶-۴- کشور چین (China)

اصول کلی و رهنمودهای مربوط به مواد اولیه (raw materials)، مواد بیولوژیک فرعی (AMs) و مواد حامل و افزودنی (excipients) برای فرآورده‌های بیولوژیک در فصل "کنترل‌های کیفی مواد اولیه (raw materials) و مواد فرعی (کمکی) (ancillary materials)" برای

سازمان غذا و دارو

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

فرآورده‌های بیولوژیک^۱ از فارماکوپه جمهوری خلق چین، جلد سوم (۲۰۲۰)^۲ ارائه شده است (۲۹). مواد کمکی (AMs) بر اساس سطح ریسک با توجه به منشأ (source)، سمیت برای فرآورده بیولوژیک و خطر آلودگی^۳، در چهار سطح (دسته‌بندی ریسک) ۱-۴ دسته‌بندی می‌شوند. الزامات مربوط به سرم گاوی در فصل "سرم گاو نوزاد"^۴ [۱۸] ارائه شده که در آن ویژگی‌های کیفی از جمله پروتئین کل^۵، هموگلوبین، مقدار pH^۶، اسمولالیت، استریلیتی، مایکوپلاسما، ویروس‌ها و اندوتوکسین‌ها به همراه معیارهای مربوطه^۷ و روش‌های آزمون توصیه‌شده شرح داده شده است. هر سری (لات) از سرم، به منظور احراز صلاحیت^۸، باید از نظر توانایی حمایت از رشد سلول‌های Sp2/0-Ag14 و یک رده سلولی خاص دیگر (HFL1، Mv1Lu، Vero یا تخمدان همستر چینی^۹) در شرایط کشت درون‌تنی مورد آزمون قرار گیرد. الزامات لازم برای احراز صلاحیت مواد فرعی (AMs) بر اساس سطوح خطر فارماکوپه چین^{۱۰} در جدول زیر فهرست شده است.

جدول. الزامات احراز صلاحیت مبتنی بر ریسک برای مواد کمکی محصولات بیولوژیک در چین

Risk category	1	2	3	4
Marketing license (e.g., BLA, production permit)	✓	✓		
Vendor GMP certificate	✓	✓		
Vendor release qualification report	✓	✓	✓	✓
Qualification certificate (from national agency)	✓ (if available)			
Testing report (compliant with national pharmacopoeia guideline)	✓	Sampling (lot)	✓	✓
Testing report on critical quality attributes	✓	✓		
Adventitious agents				✓ (if animal origin)
Additional processing or purification			✓ (if necessary)	✓ (if necessary)
Source certificate				✓ (if animal origin)
Compliance with safety requirements of China and country of origin (e.g., TSE)				✓ (if animal origin)
Vendor audit	✓	✓	✓	✓

BLA, Biologics License Application; GMP, Good Manufacturing Practice; TSE, Transmissible Spongiform Encephalopathy.

بخشنامه^{۱۱} (provision) دیگر با عنوان "ملاحظات کنترل کیفیت و مطالعات غیربالینی برای درمان‌های سلولی بر پایه CAR T-cell (۲۰۱۸)" نیز ارائه شده است. این بخشنامه نیز اگرچه بر تولید سلول‌های CAR-T متمرکز است، اما در عین حال، اطلاعات مفیدی برای انتخاب و کنترل خطر مواد فرعی^{۱۱} در محصولات سلولی ارائه می‌دهد. به طور کلی، توصیه می‌شود که خطر هر ماده فرعی در مراحل اولیه توسعه محصول در نظر گرفته شده و طبقه‌بندی شود. به توسعه‌دهندگان فرآورده توصیه می‌شود تا حد امکان و در

¹ Quality controls of raw materials and ancillary materials for biological products

² Pharmacopoeia of the People's Republic of China, Volume III (2020)

³ Risk of contamination

⁴ Newborn bovine serum

⁵ Total protein

⁶ pH value

⁷ Respective criteria

⁸ Qualification

⁹ Chinese hamster ovary

¹⁰ Chinese Pharmacopoeia risk level

¹¹ Risk control of AMs

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

صورت مناسب بودن از مواد کم‌خطر (کم ریسک)^۱ (در مقابل پرخطر^۲)، استریل (در مقابل غیراستریل)، تولیدشده تحت شرایط GMP (در برابر غیر GMP)، درجه بالینی (در مقابل غیر بالینی) و فاقد منشأ حیوانی^۳ (در برابر دارای منشأ حیوانی^۴) استفاده نمایند. ویژگی‌های کیفی^۵، روش‌های آزمون و معیارهای آزادسازی^۶، باید برای هر ماده فرعی مطابق با رده خطر (دسته ریسک) آن تعیین شده و به طور مستمر در طول توسعه بهبود یابند. برای مواد فرعی درجه تحقیقاتی^۷، علاوه بر آزمون‌های ایمنی (safety tests) مربوط به مایکوپلاسما، استریلیتی، ویروس‌ها و اندوتوکسین‌ها، خلوص (purity)، قدرت (potency) و اثرات بیولوژیک بر زنده‌مانی و عملکرد سلول‌ها^۸ نیز باید به عنوان بخشی از کنترل کیفیت در نظر گرفته شود.

۲-۶-۴- کشور هند (India)

مواد بیولوژیک فرعی (AMS) مورد استفاده در توسعه محصولات ژن و سلول‌درمانی (CGT) برای دستیابی به یک فرآیند تولید تکرارپذیر (reproducible) و مستحکم (robust) حیاتی هستند. علاوه بر این، این مواد باید از استانداردهای کیفی سختگیرانه (stringent) برخوردار بوده و معیارهای نظارتی^۹ لازم را برآورده نمایند. برای گذار موفقیت‌آمیز به مراحل کارآزمایی بالینی و تجاری‌سازی، بهترین راهبرد، استفاده از منابع (تأمین‌کننده^{۱۰}) مناسب مواد کمکی (AMS) در مراحل اولیه توسعه سلول‌درمانی است.

به طور کلی در هند، مواد بیولوژیک فرعی (کمکی) مورد استفاده در تولید محصولات سلول‌درمانی تحت مقررات و نظارت قانونی خاصی قرار ندارند. با این حال، راهنماهای نظارتی^{۱۱} (راهنماهای ملی پژوهش سلول‌های بنیادی صادرشده توسط شورای تحقیقات پزشکی هند و دپارتمان زیست‌فناوری در سال ۲۰۱۷)^{۱۲} (۳۰)، و راهنماهای ملی توسعه محصول و کارآزمایی‌های بالینی محصولات ژن‌درمانی صادرشده توسط شورای تحقیقات پزشکی هند^{۱۳}، دپارتمان زیست‌فناوری و سازمان مرکزی کنترل استاندارد دارو در سال ۲۰۱۹^{۱۴} (۳۱)، توصیه می‌کنند که توسعه‌دهندگان CGT تا حد امکان از مواد کمکی درجه بالینی/فارماکوپه‌ای تولیدشده تحت شرایط GMP استفاده نمایند، امری که بدلیل تأثیر بالقوه این مواد بر ویژگی‌ها و ایمنی محصول نهایی CGT اهمیت دارد. متأسفانه، نسخه‌های درجه درمانی^{۱۵} برای تمام انواع مواد کمکی (AMS) مورد استفاده در تولید CGT وجود ندارند. در چنین مواردی، بهترین گزینه انتخاب ماده کمکی است که تحت شرایط GMP مناسب تولید شده باشد. AMS مورد استفاده در تولید محصولات

¹ Low-risk

² High-risk

³ Animal-free

⁴ Animal origin

⁵ Quality attributes

⁶ Release criteria

⁷ Research grade AMS

⁸ Biological effects on cell viability and functions

⁹ Necessary

¹⁰ Sourcing

¹¹ regulatory guidelines

¹² National Guidelines of Stem Cell Research issued by the Indian Council of Medical Research and Department of Biotechnology in 2017

¹³ National Guidelines for Gene Therapy Product Development and Clinical Trials issued by the Indian Council of Medical Research

¹⁴ Department of Biotechnology and Central Drugs Standard Control Organization in 2019

¹⁵ Therapeutic-grade versions

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

CGT از تولیدکنندگان منتخب^۱ که تحت سیستم‌های کیفی GMP کنترل شده^۲ فعالیت می‌کنند، و بر اساس اصول سیستم کیفیت دارویی^۳ ارزیابی می‌شوند. مواد کمکی با منشأ حیوانی بر اساس منشأ و کشور مبدأ انتخاب می‌گردند. سرم جنین گاوی (FBS)، تریپسین و ماتریکل (Corning، نیویورک، آمریکا)^۴ از مواد اولیه رایج با منشأ حیوانی هستند که عموماً با الزامات مربوط به ترکیبات با منشأ جانوری مورد استفاده در تولید فرآورده‌های بیولوژیک مطابق با رهنمودهای ایالات متحده و اتحادیه اروپا سازگار می‌باشند. ارزیابی FBS بر اساس رویکرد "مدیریت و کاهش ریسک"^۵ با در نظر گرفتن ملاحظات مربوط به TSE/BSE و کشور مبدأ صورت می‌پذیرد. علاوه بر این، مواد و واکنش‌گرهای مشتق شده از حیوان نظیر FBS، آلبومین سرم گاوی و تریپسین باید از نظر وجود عوامل آلوده‌کننده تصادفی و ناخواسته (مانند عوامل TSE) مورد آزمون قرار گیرند. همانگونه که در جدول زیر نشان داده شده است، توسعه‌دهندگان محصولات CGT باید هنگام انتخاب مواد بیولوژیک فرعی (کمکی) برای فرآیند تولید محصولات CGP، بر ویژگی‌های کلیدی این مواد تمرکز نمایند.

جدول. ویژگی‌های کلیدی برای انتخاب مواد کمکی (AMs)

Attribute	Consideration
Identity and free of microbial or viral contamination	Details of composition or formulation If material is proprietary, documentation of the active components without concentration COA, pathogen testing for animal-derived materials Required viral testing and donor screening documentation for human-derived materials
Purity and impurity	Documentation of purity levels Documentation of identification of impurities
Consistency	Assays to detect residual impurities Lot-to-lot consistency on COA GMP-manufactured materials
Storage and stability	Supplier's recommended storage conditions for temperature, light and humidity, demonstrating that raw materials maintain consistent performance Shelf life and stability of AM

¹ Selected vendor manufacturing

² Controlled GMP quality systems

³ Pharmaceutical quality system

⁴ Corning, Corning, NY, USA)

⁵ Risk management and mitigation

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

۳-۶-۴-کشور ژاپن (Japan)

استانداردهای مواد بیولوژیک^۱ (۱۲) در سال ۲۰۰۳ به عنوان معیارهایی برای مواد مشتق شده از انسان، حیوانات یا سایر موجودات زنده (به استثنای گیاهان) مورد استفاده در محصولات دارویی از جمله محصولات ژن و سلول درمانی (CGT) تدوین گردید و متعاقباً مورد اصلاح قرار گرفت. هدف این استانداردها، تضمین کیفیت و ایمنی محصولات دارویی از طریق تدوین معیارها و استانداردهایی برای مواد اولیه (raw materials) است. استانداردهای مواد بیولوژیک شامل دو قاعده (مقرر) کلی (عمومی)^۲ و شش استاندارد^۳ (مواد سلولی/بافتی انسانی^۴، مواد ادراری انسانی^۵، مواد انسانی^۶، مواد منتج از نشخوارکنندگان^۷، مواد سلولی/بافتی حیوانی^۸ و مواد حیوانی^۹) بوده و اساساً تمامی ترکیبات موجود^{۱۰} در مواد بیولوژیک را پوشش می‌دهند. سه مورد از این شش استاندارد، استانداردهای مربوط به مواد بیولوژیک فرعی (AMs) هستند. استاندارد مواد انسانی بر روی مواد مشتق شده از انسان و مواد تولید شده با استفاده از مواد (substances) با منشأ انسانی (مانند پروتئین‌های نوترکیبی تولید شده از سلول‌های HEK293) متمرکز است. استاندارد مواد حیوانی نیز بر مواد مشتق شده از حیوان و مواد تولید شده با استفاده از مواد با منشأ حیوانی (مانند پروتئین‌های نوترکیب تولید شده از سلول‌های تخمدان همستر چینی) تمرکز دارد.

در خصوص مواد تولید شده با استفاده از مواد منشأ حیوانی یا انسانی که در دامنه این استانداردها قرار می‌گیرند، اگرچه در استانداردها توصیف صریحی در مورد میزان گستردگی نظارت بر مواد در زنجیره بالادست (Upstream) وجود ندارد، اما رویکرد معمول این است که این نظارت تا سطح مواد ثانویه اعمال گردد.

استاندارد مواد حیوانی و استاندارد مواد انسانی طیف وسیع‌تری از مواد کملی را تنظیم می‌کنند و بنابراین بر یک ماده خاص متمرکز نیستند. این استانداردها الزام می‌کنند که: ۱. ایمنی مواد اولیه (starting materials) یا مشتقات آن‌ها (derivates) تضمین شود ۲. غیرفعال‌سازی یا حذف ویروس‌های ناخواسته (adventitious) در فرآیند تولید انجام پذیرد ۳. سوابق (records) مربوط به تأسیساتی که مواد در آن‌ها تهیه می‌شوند، داده‌های مرتبط با تهیه مواد، نتایج آزمون، شماره سری‌ها (دسته‌ها) و سایر اطلاعات مورد نیاز برای تضمین کیفیت و ایمنی محصولات CGT نگهداری، حفظ و ثبت شوند.

در سال ۲۰۱۴، یک اطلاعیه اجرایی^{۱۱} (۲۸) مرتبط با این استانداردها منتشر شد. این اعلان، به طور مفصل متون موجود در استانداردها را تبیین می‌نماید و نمونه‌های موادی (materials) را که با الزامات قانونی مطابقت دارند، ارائه می‌کند. برای موادی که منشأشان جانوری است، شرایط حرارتی معتبر برای غیرفعال‌سازی ویروس‌ها تعریف شده‌اند. این شرایط برای برخی مواد خاص مطرح

¹ Standards for Biological Materials

² Two general rules

³ Six standards

⁴ Human cell/ tissue materials

⁵ Human urine materials

⁶ Human materials

⁷ Ruminant materials

⁸ Animal cell/tissue materials

⁹ Animal materials

¹⁰ Ingredients

¹¹ Implementation notice

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

می‌شود، اما برای ارزیابی خطر عفونت ویروسی نیازی نیست برای هر یک از این شرایط نمونه‌ی مشخصی از ماده‌ای که تحت آن غیرفعال‌سازی شده است، ارائه شود.

علاوه بر این، اعلان مثال‌هایی از مواد جانوری نیمه‌سنتزی (semi-synthesized) یا آن دسته‌ای که تحت فرایندهای پالایش قوی^۱ قرار گرفته‌اند و از لحاظ غیرفعال‌سازی باکتری، قارچ و ویروس از قوانین مستثنی می‌شوند، ارائه می‌دهد. از آنجایی که خطر آلودگی به عوامل ناخواسته (adventitious agents) و خطر بیماری TSE باید به‌صورت جداگانه مورد بررسی قرار گیرد، موادی که از حیوانات اهلی استخراج می‌شوند، باید همزمان با استاندارد مواد جانوری و استاندارد مواد اهلی^۲ سازگاری داشته باشند.

استاندارد مواد نشخوارکننده به ویژه برای کنترل ریسک TSE به کار می‌رود. این استاندارد موارد زیر را توصیف می‌کند؛ (۱) بخش‌های بدن حیوان که استفاده از آن‌ها ممنوع است؛ (۲) این که خطر TSE برای منبع جغرافیایی (کشور/منطقه) مشخصی عملاً ناچیز است؛ (۳) سوابقی جهت تضمین کیفیت و ایمنی، که شامل کشور/منطقه مبدأ (منبع)، داده‌های مرتبط با آماده‌سازی ماده، شرایط پرورش و ذبح، پردازش و رویه‌های پیشگیری از TSE و شماره دسته‌های مواد (lot)، می‌شود.

موارد تکمیلی مرتبط با کشورهای/منطقه‌های مبداء و فهرستی که در آن خطر بیماری اسفالیوم گوساله (BSE) می‌توان آن را نادیده گرفت، در این اعلان شرح داده شده‌اند. این اطلاعیه به انواع حیوانات نشخوارکننده اشاره می‌کند و همچنین شرایط دمای بالا و قلیایی^۳ که ریسک TSE را از بین می‌برند و نمونه‌هایی از مواد تولید شده تحت این شرایط را ارائه می‌دهد. این موادی که تحت شرایط فوق تولید می‌شوند، خارج از حوزه پوشش استاندارد مواد اهلی قرار می‌گیرند.

علاوه بر استانداردهای مواد زیستی، رهنمودهای دیگری نیز در زمینه محصولات درمانی ژنتیکی (CGT) وجود دارد که به‌صورت غیرمستقیم به مواد زیستی اشاره می‌کند (۳۲-۳۶)؛ اما در واقع تنها رعایت استانداردهای مواد زیستی را به‌عنوان پیش‌نیاز قانونی توصیه می‌نمایند. لازم به ذکر است که مجموعه‌ای از مطالعات علمی که به بررسی این رهنمودها و تضمین کیفیت و ایمنی محصولات مبتنی بر سلول می‌پردازند، صرفاً در چندین مجله تخصصی منتشر شده‌اند (۳۷-۴۱). تاکنون، هیچ فارماکوپه یا رهنمودی به‌طور صریح الزامات خاصی برای مواد فرعی و کمکی (Excipient-Materials, AMs) تعیین نکرده است.

۴-۶-۴- کشور کره (Korea)

مواد کمکی (Ancillary Materials یا AMs) مورد استفاده در تولید محصولات درمان‌های سلول و ژن (CGT) باید به‌طور دقیق و سخت‌گیرانه کنترل شوند و اطلاعات موردنیاز درباره آن‌ها در زمان ارائه درخواست داروی تحقیقاتی جدید^۴ ارائه گردد. "مقررات مربوط به تأیید و بازبینی محصولات زیست‌دارویی"^۵ (۴۲) الزامات کلی مرتبط با مواد اولیه (raw materials) و مواد کمکی (AMs) را

^۱ robust purification process

^۲ Standard for Animal Materials and Standard for Ruminant Materials

^۳ Alkali conditions

^۴ Investigational New Drug Application; IND

^۵ Provision on Product Approval and Review of Biopharmaceuticals

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

که باید ارائه شوند، تعریف می‌کند. بر اساس ماده ۱۴ این مقررات^۱، اطلاعاتی درباره منشأ (origin)، منبع (source)، هویت (identity)، خلوص (purity)، توان (potency) و کنترل کیفیت مواد کمکی^۲ باید ارائه شود. همچنین در مورد مواد با منشأ حیوانی، داده‌های ایمنی مبنی بر عدم وجود عوامل ناخواسته (adventitious agents) نیز باید ارائه گردد. افزون بر این، ارائه اطلاعاتی درباره میزان باقی‌مانده مواد کمکی^۳، روش‌های حذف آن‌ها و نحوه تأیید حذف کامل نیز الزامی است. اطلاعات تفصیلی‌تر درباره مواد کمکی در "راهنمای الزامات پرونده‌های کیفی محصولات درمان‌های سلولی و ژنی"^۴ (۴۳) و "راهنمای ارزیابی بانک سلولی برای محصولات درمان سلولی"^۵ (۴۴) ارائه شده است. همچنین می‌توان به "راهنمای شناسایی و مشخصه‌یابی بسترهای سلولی مورد استفاده در تولید فرآورده‌های زیستی"^۶ (۴۵) نیز مراجعه کرد. بر اساس این راهنماها، توصیه می‌شود از مواد کمکی با درجه بالینی (clinical grade) استفاده شود؛ در غیر این صورت، باید اطلاعاتی برای اثبات منشأ، ایمنی و کارایی (performance) این مواد- از جمله گواهی آنالیز (Certificate of Analysis; COA) و گواهی منشأ (Certificate of Origin)- ارائه گردد. علاوه بر این، انجام آزمون‌های تکمیلی، مانند آزمون‌های باقی‌مانده (residue tests)، برای تضمین کیفیت (quality) و ایمنی (safety) ضروری است. این راهنماها به‌طور خاص تأکید می‌کنند که باید از استفاده از آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام^۷، مانند پنی‌سیلین، یا ترکیبات هورمونی مانند استروئیدها اجتناب شود؛ در غیر این صورت، این مواد باید از طریق خنثی‌سازی^۸، غیرفعال شده یا با شست‌وشوی مکرر^۹، حذف شوند و سپس با انجام آزمون باقی‌مانده، حذف کامل آن‌ها تأیید گردد. همچنین در این راهنماها ذکر شده است که منشأ^{۱۰}، روش‌های تولید^{۱۱}، و نتایج/روش‌های کنترل کیفیت مواد کمکی- به‌ویژه در مورد آلبومین سرم انسانی (Human Serum Albumin)، سرم جنین گاوی (FBS) و تریپسین نوترکیب- باید با دقت بررسی شوند تا خطر بالقوه آلودگی شناسایی گردد. در صورت لزوم، باید روش‌هایی برای غیرفعال‌سازی یا حذف هرگونه عامل ناخواسته احتمالی^{۱۲}، از جمله عوامل مرتبط با انسفالوپاتی‌های اسفنجی‌شکل قابل انتقال (TSE) در نشخوارکنندگان، آدنووایروس و پاروویروس خوک، از مواد کمکی با منشأ حیوانی به‌کار گرفته شود.

۵-۶-۴-کشور تایوان (Taiwan)

فرآورده‌های درمان‌های سلولی و ژنی (CGT) از مجموعه‌ای از مواد کمکی زیستی (Biological Ancillary Materials; AMs) بهره می‌برند که با استفاده از روش‌های گوناگون فرآوری و کنترل کیفی تولید شده‌اند. مواد کمکی شامل اجزای انسانی و حیوانی و

¹ Article 14 of the provision

² Quality control of AMs

³ Residual amounts of AMs

⁴ Guideline on Requirements for Quality Dossiers of CGT Products

⁵ Guideline for Cell Bank Evaluation of Cell Therapy Products

⁶ Guideline on the Characterization of Cell Substrates Used to Produce Biologicals

⁷ Beta-lactam antibiotics

⁸ Neutralization

⁹ Repeated washing

¹⁰ Source

¹¹ Manufacturing methods

¹² Adventitious agents

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

همچنین موادی با منشأ انسانی و حیوانی، از جمله پروتئین‌های استخراجی یا نو ترکیب^۱ هستند. استفاده‌کنندگان این مواد مسئولیت نهایی تضمین کیفیت، ایمنی و کارایی زیستی محصول نهایی^۲ را برای کاربردهای موردنظر بر عهده دارند.

فصل ۵۰۴۰ از آخرین ویرایش فارماکوپه تایوان^۳ (۱۱) یک چارچوب مناسب برای کنترل ریسک و اعتبارسنجی ارائه می‌کند تا تولیدکنندگان بتوانند کیفیت و یکنواختی (consistency) مواد کمکی زیستی مورد استفاده در چرخه عمر تولید محصولات CGT^۴ را ارزیابی و تأیید کنند. این فصل همچنین توصیه می‌کند که در صورت هرگونه تغییر در مواد اولیه (raw materials) مورد استفاده، تولیدکنندگان باید شواهد مقایسه‌ای (comparability evidence) ارائه دهند. هیچ روش منفرد یا مجموعه‌ای از روش‌ها وجود ندارد که بتواند به‌طور کامل کیفیت (quality)، عملکرد (functionality) و ایمنی (safety) مواد کمکی مورد استفاده در تولید فرآورده نهایی را تضمین کند. بنابراین، ارزیابی ریسک^۵ باید منشأ^۶، قابلیت ردیابی^۷ و فرآیندهای کنترل یا حذف آلاینده‌ها در هر مرحله از تولید را در نظر بگیرد. هر عامل خطر (risk factor) و آثار باقیمانده آن (residual impacts) باید در چارچوب مزیت بالینی بالقوه و میزان مواجهه بیمار^۸، ارزیابی شود.

مواد کمکی تحت پوشش فصل ۵۰۴۰ شامل سرم (مانند سرم انسانی و گاوی ۵۰۹۴) (۱۱) جایگزین‌های سرم^۹ (مانند لیزات پلاکتی انسانی^{۱۰})، پروتئین‌های حاصل از فناوری DNA نو ترکیب^{۱۱} (مانند کلاژناز^{۱۲})، پروتئین‌های استخراج‌شده از منابع زیستی (مانند تریپسین خوکی^{۱۳}، ترانسفرین^{۱۴} و آلبومین) و همچنین وکتورها هستند. فصل ۵۰۹۴ توصیه‌هایی برای خرید^{۱۵}، تولید^{۱۶} و مشخصه‌یابی سرم گاوی^{۱۷} با هدف تضمین ایمنی کاربرد آن ارائه می‌کند. تولیدکنندگان باید رویه‌های کنترلی ارائه‌شده در این فصل را برای تأیید ایمنی اجزای سرم گاوی مورد استفاده در تحقیقات یا تولید فرآورده‌های درمانی رعایت کنند. منابع سرم گاوی شامل سرم جنین گاوی (FBS)، سرم گوساله نوزاد^{۱۸}، گوساله^{۱۹}، گاو بالغ و سرم اهدایی^{۲۰} است. مقررات مرتبط با این منابع در ضمیمه ۱ از فصل ۵۰۹۴ فهرست شده است.

تمام انواع سرم‌ها^{۲۱} و فرآورده‌های خونی باید از محل‌هایی جمع‌آوری شوند که توسط دولت ثبت^{۲۲} و بازرسی^{۲۳} شده‌اند (کشتارگاه‌ها^{۲۴}، مراکز ذبح مجاز^{۲۵} و مزارع حیوانات اهداکننده^{۲۶}). خون باید توسط اپراتورهای آموزش‌دیده و بر اساس روش‌های مکتوب تأییدشده^{۲۷}

¹ Extracted or recombinant proteins

² Viability of the final products

³ Chapter 5040 of the latest Taiwan Pharmacopeia

⁴ Life cycle of CGT product

⁵ Risk assessment

⁶ Sources

⁷ Traceability

⁸ Patient's clinical benefit and exposure risk

⁹ Serum substitutes

¹⁰ Human platelet lysate

¹¹ Proteins produced by recombinant DNA technology

¹² Collagenase

¹³ Porcine trypsin

¹⁴ Transferrin

¹⁵ Purchasing

¹⁶ Production

¹⁷ Characterization of bovine serum

¹⁸ Newborn calf

¹⁹ Calf

²⁰ Donor and adult bovine serum

²¹ Annex I of 5094

²² Bovine sera

²³ Government registered

²⁴ Government-inspected

²⁵ Slaughterhouses

²⁶ Abattoirs

²⁷ Donor farms

²⁸ Written procedures approved

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

توسط تولیدکننده سرم جمع‌آوری شود. از تجهیزات جمع‌آوری یکبارمصرف^۱ یا تجهیزات قابل‌استفاده مجدد همراه با روش‌های تمیزسازی اعتبارسنجی‌شده^۲ باید استفاده گردد. تولیدکنندگان سرم باید غیرفعالسازی (inactivation) سرم را تأیید کنند. روش‌های آزمون و کنترل عوامل بیماری‌زای ناخواسته (adventitious pathogens) در محصولات سرمی در بند ۷ فصل ۵۰۹۴^۳ تشریح شده است. ویروس‌های خاص شامل ویروس اسهال ویروسی گاوی (BVDV)^۴، پاروویروس گاوی^۵، آدنوویروس گاوی^۶، و ویروس زبان آبی^۷، ویروس سین‌سیشیال تنفسی گاوی^۸، رئوویروس^۹ و ویروس هاری^{۱۰}، باید پس از حداقل ۲۱ روز کشت^{۱۱}، با استفاده از آنتی‌بادی فلورسنت مورد آزمون قرار گیرند.

سایر ویروس‌ها که در ضمیمه ۲ فصل ۵۰۹۴^{۱۲} معرفی شده‌اند، نظیر ویروس هرپس گاوی^{۱۳}، پاراآنفلوآنزای^{۱۴}، لوکمی گاوی^{۱۵}، روتاویروس گاوی^{۱۶}، سیرکوس ویروس گاوی^{۱۷}، پلی‌اوماویروس گاوی^{۱۸}، کروناویروس^{۱۹}، توروویروس^{۲۰}، انتروویروس گاوی^{۲۱}، آستروویروس گاوی^{۲۲}، ویروس تب برفکی^{۲۳} و ویروس طاعون گاوی^{۲۴} نیز ممکن است بر اساس طرح ارزیابی ریسک تولیدکننده، نیازمند انجام آزمون باشند. آزمون‌های ویروسی توصیف‌شده در فصل ۵۰۹۴ شامل تلقیح سرم^{۲۵} بر روی حداقل دو رده سلولی آشکارساز مجزا^{۲۶} برای حداقل ۲۱ روز کشت و پایش از طریق رنگ‌آمیزی سلولی/مشاهده میکروسکوپی و همچنین آزمون هم‌جذب هماتی‌ها (گلبول‌های قرمز) (hemadsorption) و روش آنتی‌بادی فلورسنت هستند. علاوه بر این، بر اساس فصل‌های ۳۰۷۱ (۴۶) و ۵۰۶۳ (۴۷)، آزمون استریلیتی و آزمون مایکوپلازما نیز برای سرم مورد استفاده در تولید محصولات الزامی است. تولیدکنندگان سرم باید قابلیت ردیابی کامل به کشتارگاه‌ها و مزارع حیوانات اهداکننده داشته باشند. به‌عنوان بخشی از سیستم ردیابی و مدیریت ریسک، تولیدکنندگان سرم باید گواهی آنالیز (COA) ویژه هر بچ (lot)، مدارک واردات و صادرات^{۲۷} و گزارش‌های مربوط به TSE را ارائه کنند.

۷-۴- استانداردهای بین‌المللی در حوزه سرم

¹ Single-use disposable collection devices

² Validated cleaning procedures

³ validated cleaning procedures

⁴ Bovine viral diarrhea virus

⁵ Bovine parvovirus

⁶ Bovine adenovirus

⁷ Blue tongue virus

⁸ Bovine respiratory syncytial virus

⁹ Reovirus

¹⁰ Rabies virus

¹¹ Cultivation

¹² Annex II of 5094

¹³ Bovine herpesvirus 1

¹⁴ Bovine herpesvirus 1

¹⁵ Bovine leukemia

¹⁶ Bovine rotavirus

¹⁷ Bovine circovirus

¹⁸ Bovine poly omavirus

¹⁹ Coronavirus

²⁰ Torovirus

²¹ Bovine enterovirus

²² Bovine astrovirus

²³ Foot-and-mouth disease virus

²⁴ Rinderpest

²⁵ Inoculation of the serum

²⁶ Distinct detector cell lines

²⁷ Import and export documents

سازمان غذا و دارو

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

استانداردهای بین‌المللی در حوزه سرم (به ویژه سرم جنینی گاو FBS) مجموعه‌ای از راهنماها و مقررات هستند که توسط سازمان‌های مختلف تدوین شده‌اند تا ایمنی، کیفیت و اثربخشی سرم را برای استفاده در داروسازی و تحقیقات تضمین کنند. این استانداردها به سه دسته اصلی تقسیم می‌شوند: استانداردهای کیفی (کیفیت محصول)، استانداردهای ایمنی (ویروس‌ها و بیماری‌ها) و استانداردهای تولید (GMP).

استفاده از سرم در تولید محصولات سلول درمانی، یکی از چالش‌برانگیزترین و حساس‌ترین مباحث در حوزه رگولاتوری (نظارت) دارویی در سطح جهان است. سازمان‌های نظارتی بزرگ جهان با رویکردی محتاطانه اما سخت‌گیرانه به این موضوع نگاه می‌کنند.

۱-۷-۴- سازمان غذا و داروی آمریکا (FDA):

ریسک ایمنی: FDA نگران انتقال عوامل بیماری‌زا (زئونوزها) مانند ویروس‌ها، پریون‌ها و میکوپلاسما از حیوانات به انسان است. **مستندسازی و ردیابی:** طبق راهنماهای FDA (مانند CMC بخشی از درخواست‌های IND و BLA)، تولیدکنندگان باید منشأ دقیق سرم، کشور تولیدکننده، و روش‌های تست شده برای غیرفعال کردن ویروس‌ها را به دقت مستند کنند. **تلاش برای حذف:** FDA تشویق می‌کند که در مراحل نهایی تولید یا در محصول نهایی، تا جای ممکن از سرم حیوانی استفاده نشود یا جایگزین‌های تعریف‌شده (Defined Media) به کار روند.

۲-۷-۴- آژانس دارویی اروپا (EMA):

مقررات TSE: اتحادیه اروپا به دلیل نگرانی از بیماری‌های ناشی از پریون (مانند بیماری جنون گاوی)، مقررات بسیار سخت‌گیرانه‌ای (Guideline on TSE) برای واردات و استفاده از مواد مشتق شده از گاو دارد. سرم‌های مورد استفاده باید از کشورهایی با وضعیت بهداشتی بسیار پایین از نظر خطر TSE تأمین شوند.

راهنمای ایمنی و ویروسی: راهنمای EMA در مورد ایمنی و ویروسی محصولات بیولوژیک، الزامات دقیقی برای تست سرم و اثبات اینکه فرآورده‌های تولید (مانند purification) آلودگی‌های احتمالی را حذف می‌کنند، تعیین کرده است. توضیحات در این مورد به تفصیل در ادامه مورد بحث قرار خواهد گرفت.

۳-۷-۴- اداره داروسازی و تجهیزات پزشکی ژاپن (PMDA):

ژاپن نیز مشابه اروپا و آمریکا، بر ایمنی و ویروسی و ردیابی منشأ مواد اولیه تأکید دارد. با توجه به پیشگامی ژاپن در حوزه محصولات سلول درمانی، PMDA استانداردهای دقیقی برای اثبات اینکه سرم استفاده شده بر روی کیفیت و ایمنی سلول‌ها (مانند تغییر در فنوتیپ سلولی) اثر منفی نگذاشته، دارد (توضیحات در این مورد به تفصیل در قبل مورد بحث قرار گرفته است).

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

۴-۷-۴- سازمان جهانی بهداشت (WHO):

WHO در دستورالعمل‌های خود برای توسعه و ارزیابی محصولات سلول درمانی، استفاده از سرم حیوانی را یک "ریسک با پتانسیل بالا" می‌داند و توصیه می‌کند که از سرم‌هایی استفاده شود که از مناطق جغرافیایی امن و با وضعیت بهداشتی پایدار تهیه شده باشند و در صورت امکان، از سیستم‌های کشت بدون سرم (Serum-free) یا سرم‌های انسانی (Human Platelet Lysate) استفاده شود. از نکات کلیدی مورد توافق رگولاتوری‌ها (نقاط مشترک) این است که تمامی سازمان‌ها بر این باورند که استفاده از سرم حیوانی باید به حداقل برسد. ترجیح با استفاده از محیط‌های کشت بدون سرم (Serum-free Media) یا محیط‌های کشت شیمیایی تعریف شده (Chemically Defined Media) است تا تغییرات ناخواسته در سلول‌ها به حداقل برسد (جایگزینی (Elimination/Replacement)). در صورتیکه استفاده از سرم اجتناب‌ناپذیر است، باید فرآورده‌های غیرفعال‌سازی ویروس (مانند گاما-ایرادیشن یا پاستوریزاسیون) روی آن انجام شده باشد و گواهی‌های تحلیل (Certificate of Analysis) معتبر ارائه گردد (Inactivation and Testing). در عین حال، نهادهای نظارتی نگران هستند که پروتئین‌های خارجی موجود در سرم ممکن است روی سطح سلول‌ها چسبیده و باعث ایجاد واکنش‌های ایمنی در بیمار شوند.

به طور کلی، دیدگاه کلی رگولاتوری‌های دنیا این است که "استفاده از سرم حیوانی یک ریسک قابل مدیریت است، اما نباید بدون ضرورت باشد". روند جهانی به سمت حذف کامل سرم حیوانی از زنجیره تولید محصولات سلول درمانی پیش می‌رود تا ایمنی بیماران و تکرارپذیری تولید (Consistency) تضمین شود.

۴-۷-۴-۱- توصیه‌هایی برای ارزیابی کشت‌های سلولی حیوانی به عنوان بستر در ساخت محصولات دارویی بیولوژیک و مشخصه‌یابی بانک‌های سلولی

این توصیه‌ها به عنوان «جایگزین پیوست ۱ سری‌های گزارش فنی سازمان جهانی بهداشت، شماره ۸۷۸» ارائه شده است. به طور کلی توصیه‌های منتشر شده توسط سازمان جهانی بهداشت (WHO) ماهیتی علمی و مشورتی دارند. این توصیه‌ها می‌تواند به عنوان الزامات قطعی ملی پذیرفته، یا با توجیه لازم، تغییراتی در آن‌ها اعمال نمایند. این توصیه‌ها تضمین می‌کنند که محصول بیولوژیک حداقل به همان میزان ایمن و مؤثر خواهد بود.

محیط کشت و افزودنی‌های خاص^۱ (سرم، فاکتورهای رشد، اسیدهای آمینه و سایر ترکیبات محرک رشد) باید تا جایی که امکان پذیر است، از نظر ترکیب شیمیایی و خلوص مشخص شوند. استفاده از سرم یا سایر ریجنت‌های تعیین هویت نشده (Poorly Defined) در تولید محصولات بیولوژیک جدید از طریق کشت سلول توصیه نمی‌شود و تا جایی که امکان پذیر است، باید از جایگزین‌های تعریف شده از نظر شیمیایی استفاده شود. در مواردی که استفاده از ریجنت‌های پیچیده بیولوژیک مانند سرم جنینی گاو (FBS)

^۱ Specific additives

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

همچنان ضروری است، باید تا جایی که امکان پذیر است، انتخاب دسته‌ها (Batches) پیش از مصرف، باید به دقت تحت کنترل قرار گیرند. دستگاه‌های نظارتی کشور^۱/آزمایشگاه کنترل مرجع^۲، باید منشأ (منابع) مواد اولیه^۳ مشتق شده از حیوانات، نظیر سرم و را تأیید کند. این مواد باید با دستورالعمل‌های مربوط به توزیع عفونت‌پذیری بافت‌ها^۴ در مورد بیماری‌هایی مانند انسفالوپاتی اسفنجی قابل انتقال (TSEs) مطابقت داشته باشند. این مواد باید تحت آزمون‌های مناسب برای ارزیابی کیفیت و عدم آلودگی به عوامل میکروبی قرار گیرند تا پذیرش آن‌ها برای استفاده در تولید فرآورده‌های بیولوژیک ارزیابی شود (۴۸).

منشأ سرم‌ها باید مستند گردد تا اطمینان حاصل شود که منابع اخذ سرم از مناطق جغرافیایی با سطوح قابل قبول خطر میکروبی (مانند عدم وجود ویروس تب برفکی یا BSE) هستند. علاوه بر این، باید مستنداتی در مورد تاریخچه ساخت، تولید، کنترل کیفیت و هرگونه پردازش نهایی یا تکمیلی که می‌تواند بر کیفیت و ایمنی سرم تأثیر بگذارد (مانند مخلوط‌سازی^۵ و تقسیم‌بندی دسته‌های سرم^۶) جمع‌آوری شود.

ریجنت‌های مشتق شده از حیوانات مانند سرم که در فرآیندهای استریل‌سازی فیزیکی^۷، از جمله حرارت و تابش^۸، به شدت آسیب‌پذیر یا تخریب می‌شوند، بیشتر در معرض آلودگی‌ها و مخاطرات میکروبی^۹ قرار دارند. مشاهده شده است که دسته‌هایی از ریجنت‌هایی مانند سرم گاوی، حاوی گونه‌های میکوپلاسما و گاهی بیش از یک آلودگی ویروسی هستند. همچنین مشخص شده است که برخی آلودگی‌های ناشی از سایر منابع قادر به آلوده کردن سلول‌ها در کشت هستند.

«منشأ سرم مشتق شده از گاو باید توسط دستگاه‌های نظارتی کشور^{۱۰}/آزمایشگاه کنترل مرجع^{۱۱}، تأیید شود. مسئولیت اطمینان از کیفیت سرم مورد استفاده در ساخت بانک‌های سلولی^{۱۲} و محصولات بیولوژیک^{۱۳} بر عهده تولیدکننده محصول بیولوژیک^{۱۴} است. تولیدکننده فرآورده بیولوژیک ممکن است پس از خرید از تولیدکننده اصلی سرم از شرکت سازنده به صورت خودخواسته و انتخابی، نسبت به انجام آزمون‌های بیشتر برای عوامل ناخواسته^{۱۵} اقدام نموده و مبادرت به غیرفعال‌سازی سرم^{۱۶} نماید. از سوی دیگر، تولیدکننده ممکن است سرم را تنها پس از انجام ممیزی‌های دقیق و مستمر از تأمین‌کنندگان سرم، خریداری نماید. این ممیزی‌ها باید تضمین کنند که تأمین‌کنندگان، فرآیند تولید، کنترل کیفیت و اعتبارسنجی لازم را به درستی انجام داده‌اند تا سطح کیفی مورد نیاز سرم برای محصول بیولوژیک تحت تولید حاصل شود. در برخی موارد، گواهی‌های آنالیز (COA) ممکن است کافی تلقی شده و کافی باشد.

¹ National regulatory authorities (NRAs)

² National control laboratories (NCLs)

³ Animal-derived raw materials

⁴ Tissue infectivity distribution

⁵ Blending

⁶ Aliquoting of serum batches

⁷ Physical sterilization

⁸ heat and irradiation

⁹ Microbiological hazards

¹⁰ National regulatory authorities (NRAs)

¹¹ National control laboratories (NCLs)

¹² Cell Banks

¹³ Biological rests

¹⁴ Manufacturer of Biologicals

¹⁵ Adventitious agents

¹⁶ Inactivation of the serum

سازمان غذا و دارو

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

سرم و سایر مواد مشتق شده از گاو باید قبل از استفاده در تولید MCB ها و WCB ها و در ساخت مواد بیولوژیکی، از نظر عوامل آلاینده ناخواسته مانند باکتری‌ها، قارچ‌ها، میکوپلاسماها و ویروس‌ها آزمایش شوند. باید به ویروس‌هایی که می‌توانند از مواد مشتق شده از گاو وارد شوند و می‌توانند مشترک بین انسان و دام یا سرطان‌زا باشند (مانند ویروس اسهال ویروسی گاوی (BVDV)، ویروس پولیومای گاوی، سیرکوکوویروس‌های^۱ گاوی، ویروس‌های هاری، آدنوویروس‌های گاوی، پاروویروس گاوی (BPV)، ویروس سینسیشیال تنفسی گاوی^۲ (BRV)، ویروس رینوتراکئیت عفونی گاوی^۳ (IBR)، ویروس پارائنفلوئانزای گاوی نوع ۳ (BPIV3)، رئوویروس^۴ (REO3)، Cache Valley virus، ویروس زبان آبی^۵ (BTV) و ویروس بیماری خونریزی‌دهنده همه‌گیر) توجه ویژه‌ای شود. همچنین باید به استراتژی‌های کاهش ریسک^۶، مانند غیرفعال‌سازی توسط گرما یا تابش^۷، توجه شود تا اطمینان حاصل شود که عوامل آلاینده ناخواسته^۸ که در فرآیند تولید و کنترل کیفیت سرم شناسایی نمی‌شوند، تا حدی که برای سازمان نظارتی ملی/آزمایشگاه کنترل ملی قابل قبول باشد، غیرفعال می‌شوند.

اگر در ساخت سرم از پرتودهی یا سایر روش‌های غیرفعال‌سازی (مثلاً استریلیزاسیون حرارتی^۹) استفاده شود، آزمایش‌های مربوط به شناسایی عوامل آلاینده ناخواسته باید قبل از غیرفعال‌سازی انجام شود تا امکان تشخیص آلودگی افزایش یابد. اگر در هر یک از آزمون‌ها شواهدی از آلودگی ویروسی یافت شود، آن سرم تنها در صورتی قابل قبول است که ویروس، شناسایی شده و میزان حضور آن در یک مطالعه اعتبارسنجی (Validation) متعاقب، به گونه‌ای اثبات شده باشد که به طور مؤثری با روش حذف ویروسی غیرفعال گردیده است. اگر در هر یک از آزمون‌های سرمی که قرار نیست تحت فرآیند غیرفعال‌سازی یا حذف ویروس قرار گیرد، شواهدی از آلودگی ویروسی یافت شود، این سرم به طور کلی قابل قبول نخواهد بود. اگر تولیدکننده فرآورده بیولوژیک تصمیم به استفاده از سرمی بگیرد که غیرفعال‌سازی نشده است، باید آزمون‌های دقیق بر روی سرم جهت شناسایی عوامل ناخواسته، با استفاده از بهترین رویه‌های موجود (Best Practices)، انجام شود. اگر هرگونه عامل خارجی شناسایی شود، باید اثبات گردد که بانک‌های سلولی تهیه شده به این روش، فاقد ویروس (های) شناسایی شده هستند. اگر از تابش^{۱۰} (ایرادیشن) استفاده می‌شود، مهم است که اطمینان حاصل شود دوز یکسان و قابل تکرار^{۱۱} به تمام دسته‌ها و واحدهای تشکیل‌دهنده هر دسته تابش می‌شود. دوز تابش^{۱۲} باید به اندازه‌ای پایین

¹ Circovirus

² Bovine respiratory syncytial virus

³ Infectious bovine rhinotracheitis virus

⁴ Reovirus 3

⁵ Bluetongue virus

⁶ Risk-mitigation strategies

⁷ Inactivation by heat or irradiation

⁸ Adventitious agents

⁹ Heat sterilization

¹⁰ Irradiation

¹¹ Reproducible dose

¹² Irradiation dose

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

باشد که خواص بیولوژیکی مواد^۱ حفظ شود، و در عین حال به اندازه‌ای کافی بالا باشد تا خطر ویروسی کاهش یابد. بنابراین، تابش اعمال شده در چنین دوزی ممکن است دوز استریل‌کننده^۲ نباشد.

در ایجاد یا انجام پاساژ سلولی^۳ سلولهای حیوانی، اگر پیش از ایجاد بانک توسط تولیدکننده فرآورده بیولوژیک، از سرم استفاده شده باشد، بانک سلولی (MCB یا WCB) و/یا سلول‌های تولیدی، جهت بررسی عوامل ناخواسته^۴ مربوط به گونه (مثلاً گاوی) سرمی که در ایجاد و پاساژ سلولی استفاده شده است، نیز می‌بایست آزمون شوند. اگر در مراحل بعدی تولید از سرم استفاده نشود، پس از آزمون شدن بانک سلولی و تأیید عدم وجود عوامل ناخواسته گاوی (یا هر گونه سرم دیگری که استفاده شده است)، تکرار این آزمون بر روی آن مراحل بعدی دیگر ضرورت نخواهد داشت.

روش‌های مورد استفاده برای آزمایش ویروس‌های گاوی باید توسط دستگاه نظارتی کشور/آزمایشگاه مرجع ملی تأیید شوند. سنجش‌های عفونت‌زایی^۵ به عنوان روش غربالگری اصلی^۶ استفاده می‌شوند و منجر به تشخیص ویروس اسهال ویروسی گاوی (BVDV)، رئوویروس نوع ۳ (REO3)، ویروس Cache Valley، ویروس تب برفکی (BTV) و ویروس بیماری هموراژیک اپیزوتیک (ویروس بیماری خونریزی دهنده اپی زوتیک)^۷، و موارد دیگر، شده‌اند. با این حال، باید توجه داشت که به طور کلی، روش‌های غربالگری عفونیتزایی توصیف شده در اینجا، به آسانی برخی از ویروس‌ها (مانند پلیوماویروس‌های گاوی) که می‌توانند آلودگی‌های مکرر سرم را ایجاد کنند، را شناسایی نمی‌کنند. ممکن است نیاز به در نظر گرفتن روش‌های تکمیلی، مانند تکنیک تکثیر اسید نوکلئیک (NAT)^۸ مانند PCR باشد، هرچند وجود توالی‌های ژنومی ویروسی لزوماً نشان‌دهنده ویروس عفونی نیست. در مواردی از این دست، ممکن است لازم باشد سنجش‌های عفونت‌زایی خاصی که برای تشخیص ویروس مورد نظر (مانند پلیوماویروس گاوی^۹) طراحی شده‌اند، در نظر گرفته شوند.

عامل دوم در غربالگری سرم، حجم نمونه محدود استفاده شده در مقایسه با اندازه سری ساخت^{۱۰} (که ممکن است به نسبت ۱:۱۰۰۰ باشد) است که ناشی از مخلوط‌سازی (تجمیع) سرم^{۱۱} از حیوانات متعدد حاصل شده است. در نتیجه، ویروس‌های عفونی ممکن است در آزمایش سری ساخت سرم شناسایی نشوند و باید غربالگری مستقیم بانک سلولی برای ویروس‌های گاوی در نظر گرفته شود. این

¹ Reagents

² Sterilizing dose

³ Passage History

⁴ Adventitious agents

⁵ Infectivity assays

⁶ Screening method

⁷ Epizootic haemorrhagic disease virus

⁸ Nucleic acid amplification technique (NAT)

⁹ Bovine polyomaviruses

¹⁰ Batch size

¹¹ Pooling of serum

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

آزمایشات می‌توانند علاوه بر فرآیند غربالگری عمومی، شامل تکنیک تکثیر اسید نوکلئیک (NAT) برای بررسی وجود ویروس‌های گاوی باشند که حتی خود سلولهای کشت داده شده^۱ را آلوده نمایند که می‌توانند منجر به عفونت‌های از بین برنده سلول^۲ و/یا تغییر ماهیت دهنده سلول^۳ شوند. خانواده‌های ویروسی که از این نظر نگرانی خاصی در مورد آنها وجود دارد عبارتند از پولیوماویروس‌ها^۴، هرپس ویروس‌ها^۵، سیرکوویروس‌ها^۶، آنلویروس‌ها^۷ و آدنوویروس‌ها^۸ هستند.

آزمون‌های غربالگری عمومی برای شناسایی ویروس‌های عفونی در سرم یا خود سلولهای کشت داده شده شامل استفاده از حداقل یک رده سلولی شاخص^۹، مانند سلول‌های توربینات (شاخک) گاوی^{۱۰} است، که برای تکثیر ویروس اسهال ویروسی گاوی (BVDV)^{۱۱} مجاز می‌باشد. رده سلولی دیگر مانند Vero، نیز باید به کار گرفته شود تا دامنه شناسایی ویروس جامعیت پیدا کند^{۱۲}. قبل از شروع غربالگری، ممکن است لازم باشد سرم را از نظر وجود آنتی‌بادی، به ویژه آنتی‌بادی BVD، که می‌تواند وجود ویروس عفونی را بپوشاند، ارزیابی شود.

سلول‌های شاخص (Indicator cells) معمولاً در حضور سرم تحت آزمون به مدت ۲۱ تا ۲۸ روز کشت داده می‌شوند و در صورت نیاز پاساژ داده می‌شوند. در طول این دوره، سلول‌ها به طور منظم برای بررسی وجود اثر سیتوپاتیک (CPE) نشان‌دهنده عفونت ویروسی است مورد معاینه قرار می‌گیرند. در پایان دوره مشاهده، که نباید کمتر از ۷ روز پس از آخرین پاساژ سلولی (subculture) باشد، سلول‌ها رنگ‌آمیزی می‌شوند تا اثر سیتوپاتیک که ممکن است در حین مشاهده سلول‌های زنده نادیده گرفته شده باشد، شناسایی گردد. آزمون‌های نهایی (End-point assays) تکمیلی باید شامل هم adsorbition و هم‌اگلوتیناسیون^{۱۳} در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و دمای بالاتر مانند ۲۰ تا ۲۵ درجه سانتی‌گراد و همچنین آزمون‌های ایمونوفلورسانس (IFAs) برای ویروس‌های خاص باشد. برای هر آزمون باید کنترل‌های مناسبی استفاده شود – مانند BPIV3 برای هم adsorbition. آزمون‌های ایمونوفلورسانس به ویژه برای BVDV اهمیت دارند، زیرا ممکن است BVDV غیرسیتوپاتیک در سرم وجود داشته باشد. آزمون ایمونوفلورسانس همچنین برای شناسایی سایر ویروس‌هایی که ممکن است بر اساس ملاحظات جغرافیایی تعیین شوند – مانند آدنوویروس‌ها، BRSV، BTV، BPV، REO3 و همچنین آلودگی‌های محتمل اما جدی مانند ویروس هاری – مهم بوده و استفاده می‌شوند. اگر از سرم گونه دیگری در

¹ Cell substrate

² Abortive infections

³ Transforming infections

⁴ Polyomaviruses

⁵ Herpesviruses

⁶ Circoviruses

⁷ Anellovirus

⁸ Adenoviruses

⁹ Indicator cell line

¹⁰ Bovine turbinate cells

¹¹ Replication of BVDV

¹² Broaden the detection range

¹³ Haemagglutination

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

کشت سلول استفاده شود (یعنی غیر از گاو)، باید با سازمان نظارتی ملی / آزمایشگاه مرجع در مورد روش‌های آزمایش قابل قبول برای آن گونه مشورت شود.

گفته شده است که سلولهای کشت داده شده در کشت‌های سلولی اولیه^۱ با استفاده از محیط‌های کشت ساده و حاوی سرم گاوی رشد و تکثیر می‌یابند. این سلول‌ها به طور کلی دارای حساسیت گسترده‌ای در برابر انواع ویروس‌ها هستند که برخی از این ویروس‌ها دارای اثر سیتوپاتیک (سلول کش) می‌باشند. از آنجائیکه این سلولها برای رشد بدون سرم دچار مشکل می‌شوند (یا به سختی به رشد بدون سرم سازگار هستند، در صورت حفظ شرایط استرility و آسپتیک، رشد آنها با سرم گاوی مقدور است. از طرفی رده‌های سلولی پیوسته (Continuous cell lines: CCLs)، را می‌توان به رشد در محیط کشت بدون سرم^۲ سازگار کرد. برخی از رده‌های سلولی پیوسته (CCLs) از دهه ۱۹۸۰ تاکنون برای تولید داروهای بیولوژیک^۳ و واکسن‌های ایمن و مؤثر، مورد استفاده قرار گرفته‌اند. در صورت وجود جایگزین‌های مؤثر برای مواد مشتق شده از نشخوارکنندگان^۴، باید از آنها در فرآیندهای کشت سلول و تولید استفاده شود. از جمله این جایگزین‌ها می‌توان به محیط کشت سلول فاقد مواد حیوانی، پلی‌سوربات و استئارات منیزیم منشأ گیاهی، آنزیم‌هایی مانند رنین با منشأ میکروبی (مورد استفاده در تولید لاکتوز) و انسولین بازترکیبی و اسیدهای آمینه مصنوعی اشاره کرد. باید توجه داشت که مواد نوترکیب^۵ ممکن است خود در معرض مواد حیوانی قرار گرفته باشند، بنابراین هنگام انتخاب مواد نوترکیب به عنوان جایگزین، باید این پتانسیل در نظر گرفته شود. با این حال، همیشه امکان استفاده از ترکیبات فاقد مواد حیوانی و مواد اولیه با منشأ غیرنشخوارکننده وجود ندارد. برای مثال، ممکن است در توسعه خطوط سلولی یا برای تخمیر (Fermentation) مجبور به استفاده از سرم جنینی گاو باشیم. در این شرایط، مواد اولیه باید از کشورهایی تأمین شوند که توسط سازمان جهانی بهداشت حیوانات (OIE)^۶ دارای ریسک ناچیز BSE^۷ (سطح ریسک جغرافیایی نوع I یا GBR I)^۸ طبقه‌بندی شده‌اند، همان‌طور که توسط آژانس ایمنی غذایی اروپا^۹ نیز این طبقه‌بندی صورت گرفته است. مواد اولیه دسته C^{۱۰} می‌توانند از کشورهایی با ریسک کنترل‌شده تأمین شوند، مشروط بر اینکه اطمینان حاصل شود که در طول جمع‌آوری و پردازش، آلودگی متقاطع^{۱۱} با مواد دسته A یا B رخ نداده است (با این ذکر که اگرچه این مواد دارای سطوح غیرقابل تشخیصی از عفونت‌پذیری هستند، اما به طور نظری می‌تواند موجود باشد). تولیدکنندگان باید سوابق را به گونه‌ای نگهداری کنند که محصول نهایی هر دسته (Batch) قابل ردیابی تا منشأ هر یک از مواد نشخوارکننده مورد استفاده در تولید آن باشد که ممکن است خطر مواجهه با عامل TSE را ایجاد کند، و هر ماده نشخوارکننده نیز قابل ردیابی تا محصول نهایی باشد. این امر شامل موادی است که برای توسعه و تولید بانک سلول اصلی (MCB) و پای

¹ Primary cell cultures (PCCs)

² Serum-free medium

³ Biotherapeutics

⁴ Ruminant-derived material

⁵ Recombinant materials

⁶ World Organisation for Animal Health

⁷ Negligible BSE risk

⁸ Geographical BSE-risk level I, or GBR I

⁹ European Food Safety Authority

¹⁰ Raw materials of category C

¹¹ Cross-contamination

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

کار (WCB) استفاده می‌شوند و تا حد امکان، قابلیت ردیابی باید تا منشأ (Derivation) خود خط سلولی باشد. این قابلیت ردیابی دوطرفه برای اقدامات نظارتی مناسب در صورت لزوم بسیار مهم است؛ به ویژه اگر تحقیقات علمی جدید نشان دهد که خطر عفونت‌پذیری TSE در مواد استفاده شده وجود دارد، یا اگر استفاده از محصولات با vCJD (بیماری کورتزفلد-جاکوب نوع جدید) مرتبط باشد. مواد نشخوارکننده دسته A و B با منشأ از کشورهای بومی‌زاد (BSE-enzootic) BSE نباید تحت هیچ شرایطی در تولید محصولات بیولوژیک مورد استفاده قرار گیرند. از آنجا که موارد جدید BSE علیرغم ممنوعیت خوراک دام همچنان رخ می‌دهند، و از آنجا که آزمون‌های مناسب برای عوامل TSE در مواد اولیه در دسترس نیستند، و همچنین با توجه به اینکه تحقیقات علمی نشان‌دهنده وجود پریون‌های پاتولوژیک در مواد دسته C است، بهترین رویکرد برای ایمنی TSE، عدم استفاده از پروتئین مشتق شده از حیوان است. بهترین رویکرد بعدی، تأمین مواد اولیه از کشورهای طبقه‌بندی شده به عنوان فاقد BSE است، با این درک که موارد ممکن است در آینده شناسایی شوند (هر چند الان ابزار شناسایی آنها موجود نباشد).

توضیح: در متون ایمنی زیستی و مقررات مربوط به بیماری‌های انسفالوپاتی اسفنجی‌مانند (مانند BSE)، مواد اولیه بر اساس ریسک جغرافیایی و وضعیت بیماری در کشور مبدأ به دسته‌های مختلفی تقسیم می‌شوند. دسته‌بندی A و B معمولاً به بالاترین سطوح خطر اشاره دارند.

مواد نشخوارکننده دسته A (Category A): این دسته شامل مواد اولیه‌ای است که از کشورهایی با ریسک بالا یا بومی‌زاد (High Risk / Enzootic) برای بیماری BSE (مانند انگلستان در اوج همه‌گیری) تأمین شده‌اند. استفاده از این مواد در تولید محصولات دارویی و بیولوژیک به دلیل احتمال بالای آلودگی به پریون، کاملاً ممنوع است.

مواد نشخوارکننده دسته B (Category B): این دسته مربوط به مواد اولیه‌ای است که از کشورهایی با ریسک متوسط یا کشوری که موارد BSE در آن تأیید شده اما تحت کنترل است، تهیه شده‌اند. این مواد نیز دارای ریسک قابل توجهی محسوب می‌شوند و استفاده از آنها در تولید محصولات بیولوژیک، به ویژه برای انسان، ممنوع یا به شدت محدود شده است.

هر دو دسته A و B به عنوان مواد "پرخطر" شناخته می‌شوند و طبق متن استاندارد، نباید در تولید محصولات بیولوژیک استفاده شوند. دسته C به کشورهای با ریسک کنترل‌شده اشاره دارد که استفاده از آنها با شرایط سختگیرانه مجاز است.

در سیستم طبقه‌بندی ریسک بیماری‌های اسفنجی‌مانند (مانند BSE)، دسته C (Category C) به مواد اولیه‌ای اطلاق می‌شود که از کشورهایی با «ریسک کنترل‌شده» (Controlled Risk) تأمین شده‌اند.

در این دسته‌بندی طبقه C، اقدامات سختگیرانه‌ای باید صورت گیرد؛ باید اطمینان حاصل شود که در فرآیند جمع‌آوری و پردازش، هیچگونه آلودگی متقاطع (Cross-contamination) با مواد پرخطر (دسته A یا B) رخ نداده است. می‌بایست توجه داشت که اگرچه سطح عفونت‌پذیری در این مواد غیرقابل تشخیص است، اما از نظر نظری ممکن است پریون در آنها وجود داشته باشد.

در حال حاضر، هیچ آزمون غربالگری مناسبی برای عوامل بیماری‌های اسفنجی‌مانند (TSE) در مواد اولیه از جمله سرم با منشأ انسانی/نشخوارکننده، مشابه آزمون‌های سرولوژیک یا PCR برای غربالگری عوامل ویروسی، در دسترس نیست. آزمون‌های جدیدتری

عنوان	راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک
شماره	GUI-DPNA-BIO-014
تاریخ شروع اجراء	۱۴۰۵/۰۳/۰۱
شماره بازنگری	00
تاریخ اعتبار	-

برای غربالگری وجود عوامل TSE در خون (مانند آزمون تکثیر چرخه‌ای پروتئین‌های آمیلوئیدی ناشی از پریون یا PMCA)^۱، آزمون محافظت از اپی‌توپ (Epitope Protection Assay)^۲ و سایر موارد) در حال توسعه هستند. چنین آزمون‌هایی، پس از اعتبارسنجی، می‌توانند در نهایت برای غربالگری مواد اولیه و بانک‌های سلول ایتامایز شده و استفاده گردند.

به طور کلی، مکمل‌های محیط کشت نباید از مواد اولیه با منشأ انسانی^۳ تهیه شوند و به‌ویژه استفاده از سرم انسانی مجاز نیست. با این وجود، در شرایط استثنایی و با تأیید سازمان نظارتی و آزمایشگاه مرجع کشور، به‌کارگیری مکمل‌های مشتق شده از انسان ممکن است پذیرفته شود. چنانچه در هر یک از مراحل فرآیند تولید محصول از آلبومین سرم انسانی (HSA)^۴ استفاده شود، به دلیل تفاوت‌های احتمالی الزامات در کشورهای مختلف، مشورت با سازمان نظارتی/آزمایشگاه کنترل ملی ضروری است. در حداقل شرایط، آلبومین سرم انسانی باید با الزامات بازنگری شده برای مواد بیولوژیک شماره ۲۷^۵ (۴۹) و همچنین دستورالعمل‌های مربوط به توزیع عفونت‌پذیری بافت^۶ در بیماری‌های انسفالوپاتی اسفنجی‌مانند انتقالی (TSEs) مطابقت داشته باشد (۵۰).

آلبومین نو ترکیب انسانی^۷ به صورت تجاری در دسترس است و باید مورد توجه قرار گیرد. با این حال، نباید فرض بر این باشد که فاقد خطر آلودگی است و باید همان ملاحظات ایمنی معمول مربوط به هر واکنش‌گر (ریجنت)^۸ با منشأ بیولوژیک، بر آن اعمال گردد. مانند سایر واکنش‌گرهای کشت سلول، ایجاد قابلیت ردیابی^۹ و همچنین ارزیابی و کاهش خطرات میکروبی اهمیت دارد. تنوع گسترده‌ای از واکنش‌گرهای کشت سلول با منشأ بیولوژیک در دسترس می‌باشند. این واکنش‌گرها از منابع غیرحیوانی، از جمله طیف وسیعی از موجودات آبی^{۱۰}، گیاهان^{۱۱} و جلبک‌ها^{۱۲} به دست می‌آیند. در چنین مواردی، مخاطرات دقیق احتمالی ممکن است نامشخص و ناآشنا باشند. ماهیت ریسک‌های آلودگی میکروبی ممکن است تفاوت‌های بنیادینی با مخاطرات مرتبط با واکنش‌گرهای مشتق شده از حیوانات داشته باشند و سایر مخاطراتی نظیر ویژگی‌های ایمنی‌زایی^{۱۳}، میتوژنی^{۱۴} و آلرژی‌زایی^{۱۵} خود واکنش‌گر و

^۱ Protein Misfolding Cyclic Amplification

تکثیر چرخه‌ای تغییر شکل پروتئین، یک تکنیک بسیار حساس و پیشرفته در آزمایشگاه BSE است که برای تشخیص پریون‌ها (عوامل بیماری‌های اسفنجی‌مانند مانند بیماری جنون گاوی) استفاده می‌شود.

^۲ EPA

(یک روش آزمایشگاهی Epitope Protection Assay از موم محافظت از اپی‌توپ) است که بر اساس PrP^{Sc} برای تشخیص پروتئین‌های پریونی تغییر شکل یافته ساختار و مقاومت این پروتئین‌ها عمل می‌کند. اپی‌توپ بخشی از ساختار یک پروتئین (، این PrP^{Sc} است که آنتی‌بادی‌ها می‌توانند به آن متصل شوند. در پروتئین‌های سالم (، به دلیل تغییر PrP^{Sc} بخش‌ها در دسترس هستند، اما در پروتئین‌های بیماری‌زا (شکل و تجمع (آگریگاسیون)، بسیاری از این اپی‌توپ‌ها پنهان یا در دسترس نیستند. در برابر این آنزیم بسیار حساس PrP^{Sc} رفتار با پروتئین سالم: پروتئین‌های سالم هستند و به سرعت هضم و از بین می‌روند. پروتئین‌های پریونی تغییر شکل یافته نمی‌تواند کل پروتئین (K ساختاری فشرده و مقاوم دارند. آنزیم پروتئیناز PrP^{Sc})

را هضم کند و تنها بخش‌های انتهایی آن را برمی‌دارد. بخش مرکزی پروتئین که حاوی اپی‌توپ‌های اصلی است، باقی می‌ماند و «محافظت» می‌شود.

^۳ Human source materials

^۴ Human serum albumin

^۵ Revised Requirements for biological substances no. 27

^۶ Guidelines on tissue infectivity distribution

^۷ Recombinant human albumin

^۸ Reagent

^۹ Traceability

^{۱۰} Aquatic organisms

^{۱۱} Plants

^{۱۲} Algae

^{۱۳} Immunogenicity

^{۱۴} Mitogenicity

^{۱۵} Allergenic properties

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

اجزای آن احتمالاً بروز نمایند. به عنوان مثال، مواد مشتق شده از گیاهان^۱ ممکن است حامل ریسک بالاتری از آلودگی به میکوپلاسما^۲ و مایکوباکتری^۳ باشند.

روش‌های مولکولی نوین و حساس با قابلیت‌های پوشش وسیع برای تشخیص آلودگی‌های ویروسی هم در سلولهای کشت داده شده (سلولهای بستر) و هم در افزودنی‌های محیط کشت (مانند سرم) در حال توسعه هستند. اگرچه این روش‌ها هنوز در کاربردهای روتین جا نیفتاده‌اند، اما با فراگیر شدن و تأیید اعتبار، نقش فزاینده‌ای در ارزیابی بسترهای سلولی کشت داده شده در محیط کشت خواهند داشت. هنگام سنجش کاربرد این روش‌ها، باید حساسیت^۴ و دامنه تشخیصی آن‌ها^۵ مد نظر قرار گیرد. یکی از برتری‌های برخی از این رویکردهای نوین، پتانسیل کشف ویروس‌های جدید است. این استراتژی‌های جدید شامل PCR دژنرات^۶ برای کل خانواده‌های ویروسی یا روش‌های پرایمینگ تصادفی^۷ هستند که وابستگی به توالی‌های شناخته شده ندارند. به دنبال آن قطعات تکثیر شده (آمپلیکون‌های)^۸ حاصل، با استفاده از روش‌های توالی‌یابی^۹، هیبریداسیون روی آرایه‌های الیگونوکلئوتیدی^{۱۰} و طیف‌سنجی جرمی^{۱۱} مورد تحلیل قرار گرفته‌اند. همچنین، نسل جدید روش‌های توالی‌یابی موازی انبوه (MPS)^{۱۲} ممکن است کاربردهای ویژه‌ای در تشخیص مولکولی عوامل ویروسی احتمالی باشد. این روش‌ها را می‌توان برای شناسایی ویرونها پس از تیمار با نوکلئاز جهت حذف DNA سلولی و ژنوم‌های بدون کپسید^{۱۳}، به کار برد. در این روش تشخیص، MPS برای کشف ویروس‌های جدید در سرم و سایر بافت‌ها مورد استفاده قرار گرفته است. همچنین MPS می‌تواند برای غربالگری بسترهای سلولی نسبت به ویروس‌های نهان (Latent) و لیتیک^{۱۴} از طریق توالی‌یابی ترانسکریپتوم^{۱۵} به کار گرفته شود. در این رویکرد، حجم عظیمی از داده‌ها تولید می‌شود و برای شناسایی توالی‌های ویروسی، چه از طریق انتخاب مثبت با پایگاه‌های داده ویروسی و چه انتخاب منفی برای حذف توالی‌های سلولی، به روش‌های بیوانفورماتیک قدرتمند نیاز است. احتیاط لازم است تا "هیت‌ها"^{۱۶} یا نتایج مثبت کاذب ویروسی که ناشی از شناسایی توالی‌های سلولی ترانسدوس شده موجود در برخی ژنوم‌های ویروسی است و توسط الگوریتم‌های جستجو شناسایی شده است، و یا ناشی از ژن‌های ویروسی مانند ویروکاین‌ها^{۱۷} که همولوژی نزدیکی با ژن‌های سلولی دارند، حذف گردند (۴۸).

۵- آژانس دارویی اروپا^{۱۸}

¹ Plant-derived material

² Mycoplasma contamination

³ Mycobacteria contamination

⁴ Sensitivity

⁵ Breadth of detection

⁶ Degenerate PCR

⁷ Random-priming methods

⁸ Amplicons

⁹ Sequencing

¹⁰ Hybridization to oligonucleotide arrays

¹¹ Mass spectrometry

¹² Massively parallel sequencing (MPS)

¹³ Un-encapsidated genomes

¹⁴ Lytic viruses

¹⁵ Transcriptomic Sequencing

¹⁶ Hits

¹⁷ Virokines

¹⁸ European Medicines agency

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

۱-۵- خلاصه اجرایی^۱

در دستورالعمل استفاده از سرم (FBS) در تولید فرآورده‌های دارویی بیولوژیکی انسانی آژانس دارویی اروپا، اصول کلی را که می‌بایست به منظور کنترل کیفیت^۲ و ایمنی^۳ سرم گاوی^۴ مورد استفاده در تولید محصولات دارویی بیولوژیکی انسانی اعمال شود، تشریح شده است. دستورالعمل اصلی در ژوئیه ۲۰۰۳ توسط کمیته اختصاصی محصولات دارویی (CPMP)^۵، تصویب و در اکتبر ۲۰۰۳ به اجرا درآمد. در اصلاحیه متعاقب آن عمدتاً بخش‌های ۷،۳،۳ و ۷،۳،۴ دستورالعمل را شامل می‌شد و مشتمل بر الزامات آزمایش^۶ برای ویروس اسهال ویروسی گاو (BVDV)^۷ و آنتی‌بادی‌های ضد آن، به منظور انطباق با الزامات اعمال شده برای تولید محصولات دارویی دامپزشکی ایمونولوژیک است. در این دستورالعمل بر کنترل آلاینده‌های ویروسی تأکید شده است و می‌بایست همراه با مونوگراف فارماکوپه اروپا در مورد سرم گاوی مطالعه شود.

۲-۵- پیشینه

یادداشت کمیته محصولات دارویی برای استفاده انسانی^۸ / کمیته فرآورده‌های دارویی دامپزشکی^۹ (CHMP/CVMP) در جهت به حداقل رساندن خطر انتقال عوامل بیماری آنسفالوپاتی اسفنجی (TSE) شکل حیوانی از طریق محصولات دارویی انسانی و دامپزشکی (یادداشت راهنمای TSE، مرجع ۱) توصیه می‌کند که وقتی تولیدکننده‌ای مابین استفاده از فرآورده‌ها و مواد اخذ شده از حیوانات نشخوارکننده یا غیرنشخوارکننده^{۱۰} حق انتخاب دارد، استفاده از مواد با منبع حیوانات غیرنشخوارکننده ترجیح داده

^۱ Executive summary

^۲ Quality

^۳ Safety

^۴ Bovine serum

^۵ Committee for Proprietary Medicinal Products

^۶ Testing requirements

^۷ Bovine Viral Diarrhea Virus (BVDV)

*ویروس BVDV عضوی از جنس Pestivirus در خانواده Flaviviridae است. این ویروس مسئول اسهال ویروسی گاو (BVD) است، بیماری‌ای که گاوها را در سراسر جهان تحت تأثیر قرار می‌دهد. این ویروس می‌تواند طیف وسیعی از علائم بالینی از جمله اسهال، سرکوب سیستم ایمنی، مشکلات تنفسی و مشکلات تولید مثلی را ایجاد کند.

**کمیته محصولات دارویی برای مصارف انسانی (CHMP) کمیته‌ای از آژانس دارویی اروپا (EMA) است که مسئول داروهای انسانی است. این کمیته نقش حیاتی در صدور مجوز داروها در اتحادیه اروپا ایفا می‌کند. این کمیته ماهی یک بار تشکیل جلسه می‌دهد.

**کمیته داروهای دامپزشکی (CVMP) کمیته‌ای از آژانس دارویی اروپا است که مسئول ارائه نظرات آژانس در مورد تمام مسائل مربوط به داروهای دامپزشکی می‌باشد.

^۸ Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP)

^۹ Committee for Veterinary Medicinal Products (CVMP)

^{۱۰} Ruminant

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

می‌شود. با این حال، مشخص شده است که برخی از مواد با منشأ نشخوارکننده، یعنی سرم گاو، ممکن است جزء ضروری محیط کشت سلول‌های مورد استفاده در تولید در بسیاری از محصولات بیولوژیکی دارویی باشد.

مخاطرات متعددی با استفاده از چنین مواد اولیه‌ای^۱ مرتبط است. در واقع، ماهیت^۲ و کیفیت^۳ سرم گاوی مورد استفاده در فرآیند تولید می‌تواند عمیقاً بر کیفیت محصول نهایی^۴ تأثیر بگذارد. به طور خاص، وجود احتمالی عوامل خارجی^۵ در سرم گاوی، خطری برای ایمنی محصول دارویی بیولوژیک محسوب می‌شود. در نتیجه، اکیداً توصیه می‌شود که تولیدکنندگان محصولات دارویی بیولوژیکی، قبل از استفاده، یک تجزیه و تحلیل ریسک^۶، با در نظر گرفتن کیفیت و خصوصیات بچه‌های سرم^۷ و تأثیر این سرم‌ها بر کیفیت محصول نهایی، انجام دهند.

۳-۵- دامنه^۸

کاربرد این دستورالعمل، اصول کلی را که می‌بایست به منظور کنترل کیفیت و ایمنی سرم گاوی مورد استفاده در طول فرایند تولید محصولات دارویی بیولوژیکی انسانی از جمله واکسن‌ها و محصولات بیوتکنولوژی اعمال شده و مورد دقت قرار گیرد، تشریح می‌کند. این اصول کلی شامل سرمی است که مستقیماً در طی رشد سلول‌های کشت داده شده مورد استفاده قرار می‌گیرد و یا سرمی است که در طول رشد سلول قبل از مرحله تولید- به عنوان مثال در رشد سلول‌ها قبل از تولید واکسن- استفاده می‌شود. استفاده محدود از سرم در مواردی از قبیل ایجاد بانک سلولی اصلی^۹، در طول انجماد^{۱۰} یا در طی فاز تکثیر و گسترش^{۱۱} سلولی شامل ترانسفکشن و تولید سلول‌های مهندسی ژنتیک شده^{۱۲}، نیز در محدوده این دستورالعمل قرار می‌گیرد.

توصیه‌های موجود در این دستورالعمل همچنین می‌توانند هنگام استفاده از سرم گاوی در کنترل یک محصول دارویی نیز مورد توجه قرار گیرند، زیرا کیفیت سرم موجود در محیط مغذی سلول‌ها و در یک روش کنترل کیفیت^{۱۳} می‌تواند نقش مهمی در اعتبار و قابلیت اطمینان^{۱۴} نتایج به دست آمده ایفا نماید.

¹ Raw materials

² Nature

³ Quality

⁴ Finished product

⁵ Extraneous agents

⁶ Risk analysis

⁷ Serum batches

⁸ Scope

⁹ Master cell bank

¹⁰ Cryopreservation

¹¹ Developmental phase

¹² Genetically engineered cells

¹³ Quality control procedure

¹⁴ Reliability

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

ایمنی ویروسی^۱ و سایر آزمایش‌ها ممکن است توسط تأمین‌کننده و فراهم‌کننده سرم^۲، توسط تولیدکننده محصول دارویی^۳ (مصرف‌کننده سرم^۴)، توسط یک آزمایشگاه طرف قرارداد^۵ (آزمایشگاه قراردادی) یا توسط بیش از یکی از این موارد انجام شود. این دستورالعمل برای تعیین اینکه کدام طرف (یا طرف‌ها) باید آزمایش را انجام دهند، در نظر گرفته نشده است، بلکه برای تعریف آزمایشی است که باید انجام شده و ضرورت کار است. اطمینان از انجام آزمون‌ها مطابق با استانداردهای الزامی، بر عهده متقاضی مجوز بازاریابی (Marketing Authorisation Applicant; MAA) فرآورده دارویی است، زیرا در نهایت این متقاضی است که مسئول ایمنی و کیفیت فرآورده دارویی محسوب می‌شود. انطباق با دستورالعمل راهنما در خصوص انسفالوپاتی‌های اسفنجی شکل قابل انتقال (TSE Note for Guidance) باید به‌طور مستند اثبات گردد. علیرغم موارد فوق، باید تلاش‌هایی برای کاهش استفاده از سرم گاو یا جایگزینی آن با موادی با منشأ غیرحیوانی انجام شود.

۴-۵- انواع و منابع سرم^۶

رایج‌ترین نوع سرم مورد استفاده در ساخت یک محصول دارویی بیولوژیکی انسانی، سرم جنین گاو (FBS) است. سرم جنین گاو از جنین‌هایی که در کشتارگاه‌ها از مادران سالم و مناسب برای مصرف انسان برداشت می‌شوند، به دست می‌آید. ممکن است از سرم‌های گاو دیگری مانند سرم گوساله تازه متولد شده^۷ (که از گوساله‌های زیر ۲۰ روز به دست می‌آید) یا سرم گاو اهداکننده^۸ (که از حیوانات کمتر از ۳۶ ماه با خونریزی مکرر حیوانات اهداکننده از گله‌های کنترل‌شده به دست می‌آید) استفاده شود. از آنجا که وضعیت بهداشتی گله‌ها در خصوص بیماری‌های واگیر غیر بومی (Exotic Diseases) معمولاً بر اساس وضعیت سلامت کشور مبدأ تعریف می‌شود، لازم است کد سازمان جهانی بهداشت دام (OIE Code)^۹ رعایت گردد تا عاری بودن منبع از بیماری‌های واگیر غیر بومی^{۱۰} (برای مثال تب برفکی (FMD)^{۱۱} و بیماری بلوتانگ^{۱۲}) تضمین شود. از آنجا که کد OIE لزوماً استفاده اضطراری از واکسن‌ها (زنده یا غیرفعال^{۱۳}) علیه بیماری‌های واگیر غیر بومی (بیماری‌های اگزوتیک) را در نظر نمی‌گیرد، لازم است حذف جمع‌آوری سرم از حیوانات مناطقی که چنین برنامه‌های واکسیناسیونی در آن‌ها اجرا می‌شود، مورد توجه قرار گیرد. حیواناتی که سرم آن‌ها

¹ Viral safety

² Serum supplier

³ Medicinal product manufacturer

⁴ Serum user

⁵ Contract laboratory

⁶ Types and sources of serum

⁷ New-born calf serum

⁸ Donor bovine serum

⁹ Office International des Epizooties (OIE) code

¹⁰ Freedom at source from exotic diseases

¹¹ Foot-and-mouth disease (FMD)

¹² Bluetongue

* بیماری زبان آبی (BT) یک بیماری ویروسی غیر واگیر است که نشخوارکنندگان اهلی و وحشی (عمدتاً گوسفند و شامل گاو، بز، گاو میش، بز کوهی، گوزن، گوزن شمالی و شتر) را مبتلا می‌کند و توسط حشرات، به ویژه پشه‌های گزنده از گونه‌های Culicoides منتقل می‌شود.

¹³ Live or inactivated

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

در زمان کشتار تأمین می‌شود باید معاینات پیش از کشتار (Ante-mortem) و پس از کشتار (Post-mortem) را با موفقیت پشت سر گذاشته و به‌عنوان "مناسب برای مصرف انسانی"^۱ اعلام شده باشند.

برای سرم گاوی اهدایی (Donor Bovine Serum)، وضعیت بهداشتی گله اهداکننده باید به‌طور دقیق تعریف و مستندسازی شده باشد. توصیه می‌شود این گله‌ها علیه اسهال ویروسی گاوی (Bovine Viral Diarrhoea; BVD) واکسینه نشوند، تا از هرگونه تأثیر آنتی‌بادی‌های ناشی از واکسن بر راهبرد کنترل سلامت گله جلوگیری شود.

سرم باید مطابق با پروتکل‌های مشخص و توسط کارکنانی که در این روش‌ها آموزش دیده‌اند جمع‌آوری گردد. سرم حاصل از سایر گونه‌های حیوانی (برای مثال، اسب) نیز گهگاه مورد استفاده قرار می‌گیرد. اگرچه این یادداشت راهنمای ارائه شده توسط EMA به‌طور اختصاصی شامل چنین سرم‌هایی نمی‌شود، ولی در عین حال اصول مندرج در آن قابل تعمیم و کاربرد در این موارد نیز هست.

در مورد سرمی که از کشتارگاه‌ها^۲ تهیه می‌شود، معمولاً امکان اثبات عاری بودن از بیماری‌هایی نظیر BVD وجود ندارد. تنها در صورتی می‌توان چنین ادعایی را مطرح کرد که تأمین‌کننده گواهی دهد تمامی حیوانات منبع^۳ از مزارعی منشأ گرفته‌اند که بخشی از یک برنامه منطقه‌ای یا ملی کنترل بیماری مربوطه هستند و همچنین پایش فعال^۴ برای شناسایی حضور بیماری در آن‌ها انجام می‌شود؛ این ادعا^۵ باید با انجام آزمون‌های مناسب بر روی خود سرم نیز پشتیبانی گردد. قابلیت ردیابی سرم^۶ از ظرف نهایی^۷ تا کشتارگاه مبدأ^۸ از اهمیت اساسی برخوردار است و وجود یک زنجیره حساسیتی (audit trail) شفاف و قابل اثبات، شامل ثبت دقیق حجم‌ها در هر مرحله، الزامی است. در مورد گله‌های اهداکننده‌ای که برای تولید سرم گاوی اهدایی مورد استفاده قرار می‌گیرند، باید امکان ردیابی سرم از ظرف نهایی^۹ تا مزرعه مبدأ^{۱۰} نیز تضمین شود.

۵-۵- تهیه بچ‌ها (Preparation of batches)

یک بچ سرم^{۱۱} می‌تواند حاوی سرم مشتق‌شده از هر تعداد حیوان باشد. پس از تعیین^{۱۲} و تخصیص شماره بچ^{۱۳}، آن بچ نباید با بچ‌های دیگر مخلوط شود، مگر آنکه مجدداً فرآوری^{۱۴} و شماره‌گذاری مجدد^{۱۵} گردد. هر بچ سرم باید به‌منظور حذف باکتری‌ها و مایکوپلاسم‌ها

¹ Fit for human consumption

² Abattoirs

³ Source animals

⁴ Active surveillance

⁵ Claim

⁶ Traceability of serum

⁷ Final container

⁸ Abattoir of origin

⁹ Final container

¹⁰ Farm of origin

¹¹ Batch of serum

¹² Designated

¹³ Batch number

¹⁴ Reprocessed

¹⁵ Batch number



سازمان غذا و دارو

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

فیلتراسیون شود. اقدامات مناسب باید برای تضمین یکنواختی^۱ مطلوب ماده برداشت شده^۲، مخازن/بالک های بینابینی (intermediate pools/bulks) و بچ نهایی اتخاذ گردد. تأمین کننده سرم موظف است فرآیند برداشت ماده، تشکیل و اختلاط مخازن/بالک های بینابینی و همچنین تولید و فرآوری بچ نهایی^۳ سرم را مستندسازی نماید.

انطباق با "یادداشت راهنما در خصوص عوامل انسفالوپاتی اسفنجی مانند قابل انتقال (TSE)" باید اثبات شود (۵۱). در صورتی که "گواهی انطباق TSE" توسط European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare (EDQM) از طریق فرآیند صدور گواهی انطباق با مونوگراف های European Pharmacopoeia صادر شده باشد، ارائه داده های بیشتر درباره قابلیت ردیابی^۴ و روش های برداشت^۵ در پرونده درخواست مجوز بازاریابی (MAA) ضروری نخواهد بود.

۵-۶- گواهی آنالیز (Certificate of Analysis: COA)

گواهی ارائه شده توسط تأمین کننده سرم باید شامل شماره کاتالوگ^۶، شماره بچ^۷، کشور مبدأ حیوانات منبع^۸، حجم نهایی بچ^۹، تاریخ تولید بچ^{۱۰} و مدت ماندگاری^{۱۱} باشد. تأمین کننده باید اثبات و گواهی نماید که سرم منحصراً منشأ گاوی^{۱۲} دارد. همچنین معمولاً مقدار پروتئین های سرمی و ویژگی های فیزیکوشیمیایی سرم به همراه نتایج آزمون های رشد سلولی ذکر می شود. در نهایت، در بچ نهایی سرم نباید هیچ گونه باکتری، قارچ، میکوپلاسما یا ویروسی شناسایی گردد. به دنبال احراز این موارد، صدور گواهی^{۱۳} به فرآورده صورت می گیرد. تمام آزمون ها ترجیحاً باید مطابق با الزامات European Pharmacopoeia انجام شوند؛ در غیر این صورت، تمامی آزمون های جایگزین باید طبق استانداردهای مناسب، اعتبارسنجی (validation) شوند. کلیه عملیات انجام شده توسط تأمین کننده سرم باید تحت کنترل یک نظام مناسب تضمین کیفیت نظیر GMP یا ISO 9000 بوده و توسط فردی با صلاحیت مناسب^{۱۴}، مستندسازی گردد.

¹ Homogeneity
² Harvested material
³ Final batch
⁴ Traceability
⁵ Methods of harvest
⁶ Catalogue number
⁷ Batch number

⁸ Country of origin of the source animals
⁹ Final batch volume
¹⁰ Date of manufacture of the batch
¹¹ Shelf life
¹² Bovine origin
¹³ Certification
¹⁴ Suitably qualified person

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

۵-۷-۵- آزمون برای عوامل ناخواسته (Adventitious Agents)

نمونه‌ای نماینده از هر بچ سرم باید مطابق موارد زیر مورد آزمون قرار گیرد. این آزمون‌ها باید پس از فیلتراسیون بچ جهت حذف باکتری‌ها و مایکوپلاسما، اما پیش از هر مرحله‌ای که به‌طور اختصاصی برای غیرفعال‌سازی یا حذف ویروس‌ها طراحی شده است، انجام شوند.

۵-۷-۵-۱ آزمون‌های سترونی باکتریایی و قارچی

بر طبق استانداردهای آژانس دارویی اروپا، هر بچ سرم باید با آزمون‌های سترونی مندرج در مونوگراف European Pharmacopoeia مطابقت داشته باشد.

۵-۷-۵-۲ آزمون‌های شناسایی مولیکوت‌ها (Mollicutes)

هر بچ سرم باید با آزمون‌های تشخیص مولیکوت‌ها (آزمون مایکوپلاسما) طبق European Pharmacopoeia مطابقت داشته باشد.

۵-۷-۵-۳ آزمون‌های شناسایی آلودگی‌های ویروسی^۱

آزمون‌های مربوط به ویروس‌های آلاینده باید پیش از هر مرحله غیرفعال‌سازی^۲ یا حذف ویروس^۳ انجام شوند. در این راستا باید به حجم سرم مورد آزمون توجه شود و تمامی آزمون‌ها باید به‌طور مناسب کنترل و اعتبارسنجی^۴ شوند.

۵-۷-۵-۴ آزمون‌های عمومی

آزمون‌های عمومی برای شناسایی ویروس باید حداقل بر روی دو رده سلولی متمایز^۵ انجام شوند که یکی از آن‌ها منشأ گاوی^۶ داشته باشد. این آزمون‌ها باید اعتبارسنجی شده و با راهنماهای مرتبط^۷ مطابقت داشته باشند. رده‌های سلولی انتخابی باید توانایی شناسایی ویروس‌های جاذب خون (جذب‌کننده گلبول قرمز (haemadsorbing)) نظیر ویروس پارائنفلوئانزا نوع ۳^۸ و عوامل سیتوپاتیک^۹ مانند

^۱ Viral contaminants

^۲ Virus Inactivation

^۳ Remove of viruses

^۴ Validation of Tests

^۵ Two distinct cell lines

^۶ Bovine origin

^۷ Appropriate guidelines

^۸ Parainfluenza virus 3

^۹ Cytopathic agents



سازمان غذا و دارو

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

ویروس رینوتراکئیت عفونی گاوی (IBRV)^۱ را داشته باشند. سلول‌های شاهد^۲ باید با سرمی کشت داده شوند که پیش‌تر عاری از آلودگی ویروسی بودن^۳ آن اثبات شده است.

۵-۷-۵- آزمون‌های اختصاصی برای ویروس‌های مشخص^۴

آزمون‌های اختصاصی بسته به مواردی مانند توانایی آزمون(های) عمومی در شناسایی ویروس‌های خاص و وضعیت اپیدمیولوژیک جاری در کشور مبدأ^۵، تعیین می‌شوند. همچنین آزمون‌های اختصاصی برای مواردی از قبیل ویروس‌هایی باید مدنظر قرار گیرد که عبارتند از ویروس بلوتانگ (Bluetongue) و اوربی‌ویروس‌های مرتبط^۶، آدنوویروس گاوی^۷، پاروویروس گاوی^۸، ویروس سنسیشیال تنفسی گاوی^۹، ویروس اسهال ویروسی گاوی^{۱۰}، ویروس هاری^{۱۱}، رئوویروس نوع ۱۲۳.

پرونده درخواست مجوز بازاریابی (MAA) باید توجیه لازم^{۱۲} در خصوص دامنه ویروس‌های مورد آزمون در فرآورده ادعایی را ارائه دهد.

به‌طور کلی، در صورت شناسایی یک ویروس عفونی آلاینده در یک بچ سرم، آن سرم نباید در تولید فرآورده بیولوژیک دارویی انسانی مورد استفاده قرار گیرد

۵-۷-۵-۱- توصیه در خصوص ویروس اسهال ویروسی گاوی (BVDV)^{۱۴}

ویروس اسهال ویروسی گاوی (BVDV) یک عفونت بسیار شایع در گاوها است و حضور آن در سرم گاوی را نمی‌توان به‌طور کامل اجتناب‌پذیر دانست (وجود آن در سرم گاو به طور کامل قابل اجتناب نیست)، مگر در سرم‌های حاصل از گله‌های اهداکننده تحت کنترل ویژه^{۱۵} یا از گاوهای مناطق جغرافیایی عاری از BVDV^{۱۶}. در هر حال، پیش از انجام هرگونه فرآیند غیرفعال‌سازی یا حذف ویروس^{۱۷}، وجود BVDV در هر بچ سرم باید با استفاده از آزمونی پذیرفته‌شده^{۱۸} برای شناسایی ویروس عفونی مورد بررسی قرار

¹ Infectious bovine rhinotracheitis virus (IBRV)

² Control cells

³ Free of virus contamination

⁴ Specified viruses

⁵ Country of origin

⁶ Related orbiviruses

⁷ Bovine adenovirus

⁸ Bovine parvovirus

⁹ Bovine respiratory syncytial virus

¹⁰ Bovine viral diarrhoea virus

¹¹ Rabies virus

¹² Reovirus 3

¹³ Necessary justification

¹⁴ Bovine viral diarrhoea virus (BVDV)

¹⁵ Specifically controlled donor herds

¹⁶ BVDV-free geographic areas

¹⁷ Inactivation/removal treatment

¹⁸ Accepted assay

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

گیرد. این آزمون باید قادر به شناسایی سویه‌های سیتوپاتوژن و غیرسیتوپاتوژن BVDV باشد و رنگ‌آمیزی کشت‌های سلولی با آنتی‌بادی فلورسنت (FA)^۱ توصیه می‌شود. آزمون RT-PCR مستقیم^۲ در شناسایی ویروس عفونی ارزش محدودی دارد. در صورت وجود آلودگی، میزان آن باید کمی‌سازی شده و پایین‌تر از سطحی باشد که در مطالعات اعتبارسنجی^۳ فرآیند غیرفعال‌سازی، به‌طور مؤثر غیرفعال شده است. در صورت شناسایی BVDV، سرم باید پس از هر مرحله غیرفعال‌سازی/حذف مجدداً از نظر وجود ویروس عفونی آزمایش شود و تنها در صورتی مورد استفاده قرار گیرد که هیچ ویروس عفونی شناسایی نشود؛ با در نظر گرفتن ملاحظات مربوط به آنتی‌بادی‌های ضد BVDV که در ادامه آمده است.

۲-۵-۷-۵- شناسایی آنتی‌بادی‌های ضد BVDV^۴

وجود آنتی‌بادی‌های ضد BVDV در سرم گاوی ممکن است شناسایی ویروس BVDV را در آزمون‌های تشخیص ویروس عفونی پنهان سازد. بنابراین، باید از یک آزمون اعتبارسنجی شده برای شناسایی این آنتی‌بادی‌ها استفاده شود و اثر آن‌ها بر خنثی‌سازی جزئی یا کامل^۵ هر ویروس عفونی احتمالی موجود در سرم، و نیز تأثیر آن‌ها بر شناسایی ویروس و اعتبارسنجی فرآیند غیرفعال‌سازی ویروسی، ارزیابی گردد. تأثیر بر شناسایی ویروس به‌ویژه در مواردی که احتمال باقی‌ماندن عفونت‌زایی باقیمانده^۶ پس از فرآیند غیرفعال‌سازی وجود دارد، اهمیت ویژه‌ای دارد. بنابراین، این ارزیابی باید با در نظر گرفتن بار ویروسی تخمینی^۷ در محصول (بار ویروسی^۸ پیش از غیرفعال‌سازی در مقایسه با میزان حذف ویروس^۹ توسط فرآیند غیرفعال‌سازی) انجام شود.

۳-۵-۷-۵- سایر ویروس‌های گاوی

روش‌های مبتنی بر شناسایی DNA ویروسی نشان می‌دهد که ویروس پلیومای گاوی (BPv)^{۱۰} از آلاینده‌های شایع سرم گاوی است. به تأمین‌کنندگان^{۱۱} و مصرف‌کنندگان و کاربران^{۱۲} سرم توصیه می‌شود که از آزمون‌های عفونت‌زایی^{۱۳} برای BPv استفاده کرده و روش‌های غیرفعال‌سازی، کاهش یا حذف^{۱۴} این ویروس را بررسی نمایند تا حضور ویروس عفونی در بچ‌های سرم به حداقل رسیده یا

¹ Fluorescent antibody (FA)

² Direct RT-PCR

³ Validation tests

⁴ Anti-BVDV antibodies

⁵ Partial or complete neutralisation

⁶ Residual infectivity

⁷ Estimated residual virus

⁸ Virus burden

⁹ Virus clearance

¹⁰ Bovine polyoma virus (BPv)

¹¹ Manufacturers

¹² Users

¹³ Infectivity assays

¹⁴ Inactivation/removal of BPv

* EMA اذعان دارد که تفسیر سنجش‌های فعلی عفونت‌زایی برای ویروس پلیومای گاوی

دشواری است و به‌طور گسترده در دسترس نیست. در نتیجه، در حال حاضر قصد EMA

این نیست که آزمایش سرم گاوی را برای ویروس پلیومای گاوی الزامی کند. بیانیه مربوط

به ویروس پلیومای گاوی برای اطلاع‌رسانی به تولیدکنندگان و کاربران سرم در مورد

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

حذف شود*. همچنین تأمین‌کنندگان و مصرف‌کنندگان سرم باید نسبت به ویروس‌های نوپدید گاوی آگاه باشند و به‌طور مشابه توصیه می‌شود که وجود این عوامل را در سرم گاوی بررسی کرده و اقدامات مناسب برای حذف یا کاهش حضور هر ویروس جدید^۱ را اتخاذ نمایند. همواره تأکید می‌گردد که ویروس‌ها بخشی از تجزیه و تحلیل ریسک^۲ هستند که می‌بایست به دقت مورد بررسی قرار گیرند.

۶-۷-۵- آزمون‌های سمیت و رشد سلولی^۳

برای آزمون هر سری ساخت (بیج) سرم از نظر قابلیت حمایت از رشد سلولی^۴، باید از یک رده سلولی مناسب استفاده شود. انتخاب رده سلولی می‌تواند به کاربرد مورد نظر سرم بستگی داشته باشد. این آزمون‌ها باید بر روی بیج نهایی سرم پس از هر مرحله غیرفعال‌سازی ویروسی یا سایر فرآیندهای پردازشی انجام شوند.

۷-۷-۵- غیرفعال‌سازی ویروسی^۵

با توجه به خطر آلودگی ویروسی^۶ مرتبط با استفاده از سرم گاوی، علاوه بر انجام آزمون‌های مستقیم شناسایی ویروس، اکیداً توصیه می‌شود سرم با استفاده از یک روش غیرفعال‌سازی معتبر و اثربخش^۷ تیمار شود. استفاده از سرم غیرفعال‌نشده^۸ باید به‌طور مستند توجیه گردد. باید به "یادداشت راهنمای کمیته اختصاصی محصولات دارویی (CPMP)"^۹، در خصوص مطالعات اعتبارسنجی ویروسی^{۱۰}: طراحی^{۱۱}، سهم^{۱۲} و تفسیر^{۱۳} مطالعات اعتبارسنجی غیرفعال‌سازی و حذف ویروس‌ها^{۱۴} ارجاع داده شود (۵۲). در اعتبارسنجی مراحل غیرفعال‌سازی/حذف، منطق انتخاب سویه‌های ویروسی^{۱۵} باید مشخص شود. نمایندگانی از خانواده‌های مختلف ویروسی^{۱۶} (ویروس‌های پوشش‌دار^{۱۷} یا بدون پوشش^{۱۸}، ویروس‌های DNA یا RNA دار) و نیز ویروس‌هایی با درجات مختلف مقاومت

BPvV و هشدار قبلی مبنی بر اینکه رگولاتوری ممکن است در صورت در دسترس قرار گرفتن سنجش گر عفونت‌زایی مناسب یا اطلاعات بیشتر در مورد رویدادهای آلودگی، موضع خود را بررسی کند، درج شده است.

¹ Novel

² Risk analysis

³ Toxicity-cell growth

⁴ Cell growth

⁵ Viral inactivation

⁶ Viral contamination

⁷ Validated and efficacious treatment

⁸ Non-inactivated serum

1-1- ⁹ Committee for Proprietary Medicinal Products

¹⁰ Virus Validation

¹¹ Design

¹² Contribution

¹³ Interpretation

¹⁴ Removal of Viruses

¹⁵ Viral strains

¹⁶ Different viral families

¹⁷ Enveloped

¹⁸ Non-enveloped viruses

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

نسبت به نوع یا انواع تیمار مورد استفاده باید در مطالعه گنجانده شوند. در این اعتبارسنجی باید از ویروس اسهال ویروسی گاوی (BVDV) همراه با یک بچ سرم فاقد آنتی‌بادی قابل تشخیص علیه BVDV استفاده شود.

برای اعتبارسنجی فرآیند غیرفعال‌سازی/حذف، ویروس باید به سرم افزوده (spiked) شده، به مدت یک ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شود و پیش از انجام مرحله غیرفعال‌سازی/حذف، تیتراً^۱ گردد. در صورت استفاده از مرحله غیرفعال‌سازی، سینتیک غیرفعال‌سازی^۲ باید اندازه‌گیری شود.

پرتودهی گاما^۳ رایج‌ترین روش برای غیرفعال‌سازی ویروسی سرم است که با هدف دستیابی به محصولی ایمن و در عین حال زیست‌فعال به کار می‌رود. با این حال، سایر روش‌های اعتبارسنجی‌شده نیز قابل قبول هستند. صرف‌نظر از روش انتخابی، مطالعه اعتبارسنجی باید یکنواختی^۴ و اثربخشی^۵ فرآیند را در عین حفظ عملکرد سرم^۶ تعیین نماید.

در صورت استفاده از غیرفعال‌سازی از طریق روش پرتودهی، مطالعه اعتبارسنجی ویروسی باید شامل اعتبارسنجی فرآیند پرتودهی^۷ نیز باشد که موارد زیر را در بر گیرد:

الف) تعیین دمای بهینه^۸؛

ب) تعیین پیکربندی استاندارد بسته‌بندی^۹؛

ج) تعیین دوزیمترهای سنجش اشعه قادر به سنجش دوز (تابش) دریافت شده کافی و مؤثر به توده محصول (تعیین و تعریف توزیع نماینده‌ای از دوزیمترها^{۱۰} برای ارزیابی دوز مؤثر^{۱۱} دریافت‌شده در کل جرم (توده) محصول^{۱۲}، صرف‌نظر از موقعیت آن در طی فرآیند)؛

د) تعیین حداقل و حداکثر میزان پرتودهی یا دوز دریافتی توسط خود محصول.

ه) تعیین بازه دوز پرتودهی^{۱۳} که ضمن حفظ یکپارچگی و ویژگی‌های کیفی محصول^{۱۴}، حداکثر غیرفعال‌سازی آلاینده‌های میکروبی^{۱۵} را تضمین نماید. از این رو، مطالعه اعتبارسنجی باید دوز واقعی دریافتی در سراسر توده سرم^{۱۶} را به‌طور مستند نشان دهد.

¹ Titrated

² Kinetics of inactivation

³ Gamma irradiation

⁴ Consistency

⁵ Effectiveness

⁶ Serum performance

⁷ Validation of the irradiation process

⁸ Optimal temperature

⁹ Standard packaging configuration

¹⁰ Dosimeters

¹¹ Effective dose

¹² Mass of the product

¹³ Radiation dose range

¹⁴ Product integrity

¹⁵ Microbial contaminants

¹⁶ Mass of the serum

عنوان			راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک
شماره	GUI-DPNA-BIO-014	تاریخ شروع اجراء	۱۴۰۵/۰۳/۰۱
شماره بازنگری	00	تاریخ اعتبار	-

۸-۵- الزامات پرونده^۱ برای درخواست/تغییرات مجوز بازاریابی^۲

کلیه داده‌های مرتبط با محتوای گواهی مورد نیاز مصرف‌کننده سرم، شناسایی منابع مختلف تأمین، آزمون‌ها و کنترل‌های انجام‌شده بر هر سری ساخت (بیج) سرم، نام شرکت انجام‌دهنده کنترل‌ها، معیارهای پذیرش یا رد بیج‌ها توسط تأمین‌کننده سرم و نیز توسط مصرف‌کننده سرم، باید در پرونده درخواست مجوز بازاریابی درج شود.

هرگونه تغییر در تأمین‌کننده سرم یا تغییر در هر یک از فرآیندهای غیرفعال‌سازی/حذف باید در قالب یک درخواست تغییر (Variation) ارائه گردد که در آن، حسب مورد، داده‌های مقایسه‌پذیری مناسب^۳ برای ماده مؤثره دارویی (Drug Substance) و/یا فرآورده نهایی دارویی (Drug Product) الزامی خواهد بود (۵۳). در صورت تغییر از سرم غیرپروتویدی شده به سرم پروتویدی شده^۴، یا در صورت معرفی یک واحد/دستگاه پروتویدی جدید^۵ (افزودن یا جایگزینی^۶)، درخواست تغییر باید شامل اطلاعات مرتبط با مطالعه اعتبارسنجی ویروسی^۷ نیز باشد (قبلاً به آن اشاره شد).

۶- آزمون‌ها

۱-۶- آزمون‌های سنجش سترونی و استرلیتی^۸

۱-۶-۱- پارامترهای ارزیابی میکروبی

آزمون‌های ارزیابی میکروبی و محدوده قابل پذیرش آنها در توسعه محصول سرم (FBS)، می‌بایست به شرح زیر باشد:

۱-۶-۱-۱- ارزیابی آلودگی باکتریایی:

^۱ Dossier requirements

^۲ Marketing authorisation application/ variations

^۳ Appropriate comparability data

^۴ Irradiated serum

^۵ New irradiation plant

^۶ Addition or replacement

^۷ Virus validation study

^۸ Sterility

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

این پارامتر برای باکتری‌های هوازی^۱ و غیرهوازی^۲، تعریف شده، به طوریکه روش مورد سنجش، روش کشت سرم می‌باشد (culture) و بر اساس رفرنس فصل <۷۱> فارماکوپه ایالات متحده (USP <71>)*، سنجیده می‌شود. محدوده قابل پذیرش^۳ آن برای باکتریهای هوازی و غیرهوازی، عدم رشد آنها^۴ در شرایط محیط کشت می‌باشد. آزمایش استرلیزاسیون بر پایه استاندارد USP <71>، به اطمینان از عاری بودن محصولات دارای بر چسب "استریل"، از میکروارگانیسم‌های مضر کمک می‌کند. در این رابطه دو پروتکل اصلی وجود دارد؛ روش فیلتراسیون غشائی^۵، برای محصولات فیلترپذیر، و روش تلقیح مستقیم (پلیتینگ مستقیم)^۶، برای محصولات غیر فیلترپذیر.

۲-۱-۱-۶- ارزیابی وجود آلودگی با قارچ^۷ و سنجش رشد آن در نمونه سرم کشت داده شده:

بر طبق دستورالعمل USP <71>، و بر طبق رویه‌های تولید خوب فعلی (cGMPs)^۸، برای محصولاتی که با عنوان "استریل" برچسب گذاری می‌شوند، با استفاده از روشهای فیلتراسیون غشائی یا تلقیح مستقیم^۹، انجام می‌شود.

۳-۱-۱-۶- آلودگی مایکوپلاسمایی^{۱۰}:

میزان آلودگی مایکوپلاسمایی را با روش مولکولی Real Time-PCR، در نمونه سرم مورد بررسی قرار می‌دهد که در این مورد، محدوده مورد پذیرش، منفی شدن تست است که در مورد سرم نیز می‌بایست مستند گردد.

۴-۱-۱-۶- آلودگی اندوتوکسین باکتریایی^{۱۱}:

یکی دیگر از آزمون‌های مد نظر در شناسنامه کیفی سرم و آنالیز مربوطه، آزمون اندوتوکسین است. ترکیبات اندوتوکسین از اجزاء دیواره سلولی باکتریهای گرم منفی (مانند باکتری اشرشیاکلی) به شمار می‌آیند که می‌توانند با سیستم ایمنی بدن انسان فعل و انفعال نموده و باعث ایجاد پاسخ التهابی در بدن بیمار شود. خطر بیمار در اثر مواجهه با اندوتوکسین‌ها می‌تواند عواملی از قبیل تب، شوک

¹ Aerobic

² Anaerobic

³ Acceptance criteria

⁴ No Growth

⁵ Membrane Filtration

⁶ Direct Plating

⁷ Fungi

⁸ Current Good Manufacturing Practices (cGMPs)

⁹ Direct Inoculation methods

¹⁰ Mycoplasma

¹¹ Endotoxin test

* فصل <۷۱> کتاب فارماکوپه ایالات متحده (USP <71>)، که به عنوان "آزمون‌های استرلیتی" شناخته می‌شود، استانداردهای حیاتی در صنعت داروسازی و تجهیزات پزشکی است که هدف آن ارائه روشهای آزمایشگاهی استاندارد برای اثبات اینکه محصولات تزریقی، بافتی، و ... آلودگی ندارند، می باشد

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

و مرگ ناشی از واکنشهای سیستم ایمنی باشد. اندوتوکسین‌ها با اکثر روشهای استرلیزاسیون غیرفعال نمی‌شوند. بنابراین اتخاذ رویکرد کیفیت بر اساس طراحی یا همان QbD، و ملاحظات از قبیل کنترل API/مواد جانبی، کنترل بار بیولوژیکی^۱، تجزیه پیروژن از سیستم بسته‌بندی ظروف، و آزمایش رهایش/پایداری، می‌تواند در این موارد در نظر گرفته شود. آزمایش اندوتوکسین باکتریایی برای تشخیص یا تعیین مقدار اندوتوکسین‌های باکتری‌های گرم منفی انجام می‌شود. روش‌های مختلفی برای سنجش اندوتوکسین باکتریایی پیشنهاد شده است که یکی از آنها روش Gel Clot است. (۱) تکنیک ژل-کلات^۲، که مبتنی بر تشکیل ژل است؛ (۲) تکنیک کدورت سنجی^۳، که مبتنی بر ایجاد کدورت پس از تجزیه یک سوپسترای اندوژنوس است. در اصل تکنیک توربیدیمتری، یک روش کمی است که بر اساس تغییر کدورت (تاری) محلول در اثر واکنش آنزیمی می‌باشد؛ (۳) تکنیک کروموزنیک^۴ که مبتنی بر ایجاد رنگ پس از تجزیه یک کمپلکس پپتید-کروموزن سنتزی^۵ است؛ و (۴) روش واکنش زنجیره پلیمرز (rFC)، روشی جدیدتر که از آنزیم‌های بازترکیبی (Recombinant Factor C) به جای خون اسب دریایی استفاده می‌کند و به دلیل مسائل اخلاقی و حفاظت از محیط زیست در حال گسترش است.

تکنیک ژل‌سازی (Gel-Clot)، یک روش کیفی یا نیمه‌کمی که بر اساس تشکیل لخته ژل مانند در حضور اندوتوکسین بودهامکان تشخیص یا تعیین مقدار اندوتوکسین را فراهم می‌کند و برپایه لخته شدن لیژات^۶ در حضور اندوتوکسین است. حداقل غلظت اندوتوکسین‌های مورد نیاز برای لخته شدن لیژات‌ها در شرایط استاندارد، حساسیت لیژات لیل شده است. همواره آلودگی با اندوتوکسین‌های باکتریایی برای بیمار خطرناک هستند و از این جهت کنترل آنها در فرآورده‌های دارویی تزریقی بسیار حائز اهمیت بوده و تعیین معیارهای پذیرش برای مشخصات اندوتوکسین در زمان آزادسازی محصول و در طول زمان و تحت شرایط خاص نگهداری (دوره ثابت)، حائز اهمیت است.

بر طبق سند رسمی QA/QC، تعیین معیارهای پذیرش برای اندوتوکسین در مرحله آزادسازی محصول^۷ و طی دوره ثابت^۸، بر اساس استانداردهای USP<85>* و ICH Q6A**، خصوصاً برای فرآورده‌های تزریقی^۹، انجام می‌شود؛ هر چند که تعیین معیار پذیرش رهایش/پایداری برای اندوتوکسین‌ها می‌تواند دشوار باشد. محدوده قابل پذیرش برای این آزمون، $< 0.05 \text{ IU/ml}$ در نظر گرفته شده است.^{۱۰}

¹ Bioburden control

² Gel-clot technique

³ Turbidimetric technique

⁴ Chromogenic technique

⁵ Synthetic peptide-chromogen complex

⁶ lysate

⁷ Release

⁸ Stability

⁹ Injectable products

¹⁰ International units per milliliter (IU/ml)

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

اثبات اینکه محصول دارویی یا محلول آن با واکنش LAL تداخل ندارد (تست مهار یا تقویت)، یکی از مراحل مهم آزمونهای اعتبار سنجی^۱ سرم است. در عین حال، انجام آزمون روی نمونه نهایی سرم برای اطمینان از اینکه میزان اندوتوکسین آن زیر حد مجاز است، یکی از ملاحظات مهم در بخش آزمون روی محصول (Product Testing)، قلمداد می‌شود.

۵-۱-۱-۶- سنجش آلودگی ویروسی:

پارامترهای ارزیابی میکروبی آلودگی به ویروس‌های HIV I و HIV II، HBV، CMV، EBV، که با روش مولکولی Real Time-PCR، در نمونه سرم مورد بررسی قرار می‌گیرد که در این مورد، محدوده مورد پذیرش، منفی شدن تست است. استاندارد مورد استناد در این بخش بر اساس استانداردهای ICHQ5A(R1) و ICHQ3^۲ و ICHQ3^۳ است. استفاده کنندگان باید ثابت کنند که مراحل تولید (مانند تصفیه، پاکسازی و فیلتراسیون) قادر به حذف یا غیرفعال کردن ویروس‌ها بوده و میزان حذف آن‌ها (Reduction Value Log) اندازه‌گیری شده و مستند گردد.

^۱ Validation tests

^۲ ICH Q3A (R2) Impurities in new drug substances

^۳ ICH Q5A(R1) Viral Safety Evaluation of Biotechnology Products Derived from Cell Lines of Human or Animal Origin.

* فصل <۸۵> کتاب فارماکوپه ایالات متحده (USP<85>)، با عنوان «آزمون‌های بیولوژیکی واکنش‌زایی» (Bacterial Endotoxins Test) شناخته می‌شود. این فصل استاندارد بسیار مهم برای کنترل کیفیت محصولات دارویی، به ویژه تزریقی است. هدف اصلی این فصل، ارائه روش‌هایی برای شناسایی و اندازه‌گیری اندوتوکسین‌های باکتریایی (پروتئین‌های غشای خارجی باکتری‌های گرم منفی) در محصولات است. اندوتوکسین‌ها می‌توانند باعث تب (Pyrogen) و شوک در انسان شوند؛ بنابراین، وجود آن‌ها در داروهای تزریقی، تجهیزات پزشکی و آب مورد استفاده در داروسازی باید به دقت کنترل شود. این آزمون جایگزین قدیمی‌تر آزمون تب (Pyrogen Test) شده است. این استاندارد تضمین می‌کند که محصولات دارویی فاقد آلودگی‌های باکتریایی خطرناک هستند و برای بیمار ایمن می‌باشند.

* طبق ICH Q6A، مشخصات (Specification) مجموعه‌ای از آزمون‌ها، روش‌های تحلیلی و معیارهای پذیرش است که نشان می‌دهد مواد دارویی (Drug Substance) یا محصول دارویی (Drug Product) با استانداردهای کیفی مورد نظر برای استفاده در آزمایش‌های بالینی یا مصرف تجاری مطابقت دارد. این سند راهنمایی‌هایی برای انتخاب

آزمون‌های مناسب بر اساس ماهیت دارو ارائه می‌دهد. آزمون‌ها معمولاً به دسته‌های آزمون‌های عمومی، آزمون‌های فیزیکی و شیمیایی، آزمون‌های میکروبیولوژی و آزمون‌های مربوط به ویژگی‌های آزادسازی تقسیم می‌شوند.

* راهنمای ICH Q3 مجموعه‌ای از دستورالعمل‌های حیاتی است که به بررسی و کنترل «ناخالصی‌ها» (Impurities) در مواد دارویی و محصولات دارویی می‌پردازد. این راهنما به دو بخش اصلی تقسیم می‌شود که هر کدام بر روی نوع خاصی از ناخالصی‌ها تمرکز دارند: (۱) ناخالصی‌های مواد دارویی جدید (Impurities in New Drug Substances)؛ (۲) ناخالصی‌های محصولات دارویی جدید (Impurities in New Drug Products).

* راهنمای ICH Q5A(R1) با عنوان کامل «ایمنی ویروسی محصولات زیست‌دارویی: ارزیابی و تست ناخالصی‌های ویروسی» (Viral Safety Evaluation of Biotechnology Products) است. این سند یکی از مهم‌ترین استانداردها در تولید محصولات بیولوژیک (مانند واکسن‌ها، آنتی‌بادی‌های مونوکلونال و درمان‌های پروتئینی) است که با استفاده از سلول‌های یوکاریوتی یا سلول‌های حیوانی تولید می‌شوند. هدف اصلی این راهنما، تضمین اینکه محصولات دارویی فاقد ویروس‌های خطرناک هستند، می‌باشد. این سند جایگزین نسخه قبلی (Q5A) شده و شامل اصلاحیه‌های (R1) مهمی است. این راهنما تضمین می‌کند که با وجود استفاده از سیستم‌های بیولوژیک برای تولید دارو، خطر انتقال بیماری‌های ویروسی به بیماران مصرف‌کننده فرآورده‌های نهایی با محتوای این مواد خام (raw materials) به صفر نزدیک شود.

عنوان			راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک
شماره	GUI-DPNA-BIO-014	تاریخ شروع اجراء	۱۴۰۵/۰۳/۰۱
شماره بازنگری	00	تاریخ اعتبار	-

۷- نکات کاربردی و خلاصه:

استفاده از سرم گاوی جنین با گرید بالینی (Clinical-Grade Fetal Bovine Serum) در تولید محصولات بیولوژیک (مانند سلول‌های بنیادی، ایمونوتراپی‌ها و واکسن‌های سلولی) نیازمند رعایت دقیق‌ترین پروتکل‌های کیفی و ایمنی است. برخلاف سرم‌های معمولی تحقیقاتی، این سرم‌ها باید مطابق با اصول GMP (تولید خوب دارو) مدیریت شوند. استفاده از FBS گرید بالینی یک فرآیند کنترل شده است که از انتخاب تأمین‌کننده معتبر شروع شده و با ذوب کردن صحیح، فیلتراسیون استریل، و در نهایت حذف کامل آثار آن از محصول نهایی خاتمه می‌یابد. هدف نهایی، بهره‌برداری از مزایای رشد سلولی سرم، بدون به خطر انداختن ایمنی بیمار است.

۷-۱- تأییدیه‌های اولیه و اسناد (Documentation)

قبل از ورود هر بطری^۱ FBS به اتاق تمیز (Cleanroom)، باید اسناد زیر بررسی و تأیید شوند:

- گواهی تحلیل (Certificate of Analysis - CoA): باید شامل نتایج تست‌های استریلیته، میکوپلاسما، اندوتوکسین، و ویروس‌ها باشد.
- گواهی مبدا (Certificate of Origin): اثبات کند که سرم از مناطقی با ریسک پایین بیماری‌های دامی (مانند BSE) تهیه شده است.
- تأییدیه GMP: تأییدیه که فرآیند تولید و بسته‌بندی سرم تحت نظارت مقامات ذی‌صلاح و مطابق با استانداردهای دارویی انجام شده است.

۷-۲- مدیریت زنجیره سرما و انبارداری (Storage & Handling)

دمای نگهداری: سرم باید همیشه در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد یا سردتر (ترجیحاً ۳۰- تا ۴۰- درجه) نگهداری شود. جلوگیری از یخ‌زدن و ذوب شدن مکرر: هر بار ذوب شدن و یخ‌زدن مجدد^۲، کیفیت پروتئین‌های سرم را کاهش داده و خطر رشد میکروبی را افزایش می‌دهد. از اینرو پیشنهاد می‌گردد که سرم در حجم‌های کوچک (Aliquot) تقسیم شود تا فقط مقدار مورد نیاز برای یک روز یا یک مرحله تولید ذوب شود.

^۱ Bottle

^۲ Freezing/Thawing Cycles

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

ذوب کردن (Thawing): پیشنهاد می‌شود که بطری‌ها^۱ در یخچال (۲ تا ۸ درجه سانتی‌گراد) قرار داده شود تا به آرامی ذوب شوند (معمولاً یک شب تا صبح). پیشنهاد می‌گردد که از آب داغ یا مایکروویو برای تسریع در فرآیند ذوب اکیداً خودداری گردد، زیرا باعث تخریب فاکتورهای رشد می‌شود. پس از ذوب شدن کامل، قبل از باز کردن درب، بطری را به آرامی تکان داده شود تا مخلوط شود (از تکان دادن شدید که باعث کف شدن و دناتوره شدن پروتئین‌ها می‌شود، پرهیز گردد).

۳-۷- کنترل آلودگی و استریلیته (Sterility Control)

محیط کار: باز کردن و استفاده از سرم باید در کابین ایمنی بیولوژیک (Biosafety Cabinet - Class II) در اتاق تمیز (کلاس B یا C) انجام شود.

فیلتراسیون مجدد (Re-filtration): اگرچه سرم‌های گرید بالینی استریل هستند، اما در بسیاری از پروتکل‌های تولید بالینی، توصیه می‌شود هنگام افزودن به محیط کشت، سرم از یک فیلتر استریل ساز ۰.۲ میکرون (میکرومتر) عبور داده شود تا از هرگونه آلودگی احتمالی هنگام باز کردن بطری اطمینان حاصل گردد.

تست‌های درون‌فرآیندی: نمونه‌هایی از سرم استفاده شده باید برای تست‌های استریلیته ($USP <71>$) و اندوتوکسین ($USP <85>$) نگهداری شود تا در صورت بروز مشکل در محصول نهایی، بتوان منبع آلودگی را ردیابی کرد.

۴-۷- استفاده در کشت سلول (Cell Culture Application)

استفاده صحیح از سرم گاوی جنین (FBS) در محیط کشت، یکی از مهم‌ترین عوامل موفقیت در آزمایش‌های سلولی و تولید محصولات بیولوژیک است. نحوه استفاده و دوز مناسب بستگی به نوع سلول، هدف از کشت و گرید سرم دارد. غلظت سرم در محیط کشت می‌تواند از ۰ تا ۱۰۰ درصد متغیر باشد، اما محدوده‌هایی برای آن در نظر گرفته شده است. غلظت استاندارد معمولاً ۵ تا ۱۰ درصد است، اما برای محصولات بالینی باید بهینه‌سازی شود تا کمترین میزان سرم با بیشترین بازدهی رشد سلول استفاده شود (کاهش سرم به معنای کاهش خطر آلودگی و هزینه قلمداد می‌شود).

¹ Bottle

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

رنج استاندارد (۵٪ تا ۱۰٪)، رایج‌ترین غلظت برای اکثر سلول‌های پیوسته (Continuous Cell Lines) مانند سلول‌های HEK293، CHO، HeLa و سلول‌های فیروبلاست است. ۱۰ درصد معمولاً برای فاز لگاریتمی (رشد سریع) سلول‌ها استفاده می‌شود. رنج ۵ درصد معمولاً برای نگهداری (Maintenance) یا زمانی که سلول‌ها به تراکم بالایی رسیده‌اند، کافی است. غلظت و درصد بالا (۱۵٪ تا ۲۰٪) معمولاً برای سلول‌های اولیه (Primary Cells)، سلول‌های بنیادی یا سلول‌های بسیار حساس که نیاز به محیطی غنی‌تر و محافظت بیشتری دارند، استفاده می‌شود. همچنین در مراحل اولیه کشت زمانی که تعداد سلول‌ها کم است (Thawing)، استفاده از غلظت بالاتر (۲۰٪) به زنده ماندن سلول‌ها کمک می‌کند. غلظت پایین (۰٫۵٪ تا ۲٪ سرم) برای هم‌کشت (Co-culture) یا شرایط خاصی که هدف، کاهش تحریک سلولی یا القای تمایز خاصی است، استفاده می‌شود. در تولید برخی واکسن‌ها یا پروتئین‌های خاص، ممکن است سرم حذف شود (Serum-free) یا غلظت آن به حداقل برسد تا خلوص محصول نهایی افزایش یابد.

برای حفظ کیفیت سرم، به ویژه سرم‌های گرید بالینی، نباید از روش‌های سریع حرارت‌دهی استفاده کرد. پیشنهاد می‌شود که در انتخاب حجم سرم برای ذوب، فقط مقدار مورد نیاز از سرم استوک به صورت الیکوت‌های (aliquot) از قبل آماده شده استفاده شود و از تکرار چرخه انجماد و ذوب شدن جلوگیری گردد.

ذوب کردن آرام نمونه‌های سرم فریز شده حائز اهمیت است. بطری (bottle) سرم معمولاً در ابتدا در یخچال (۲ تا ۸ درجه سانتی‌گراد) قرار داده می‌شود تا به آرامی ذوب شود (معمولاً یک شب تا صبح طول می‌کشد). هم زدن ملایم پس از ذوب شدن کامل پیشنهاد می‌شود به طوریکه، بطری به آرامی چرخانده و سرو ته می‌شود تا مخلوط شود. از تکان دادن شدید (Vortex) خودداری می‌شود، زیرا باعث کف شدن و دناتوره شدن پروتئین‌ها می‌گردد. گرم کردن قبل از استفاده (اختیاری) نیز پیشنهاد شده است. برخی محققان ترجیح می‌دهند سرم ذوب شده را به دمای ۳۷ درجه (دمای بدن یا انکوباتور) برسانند تا قبل از افزودن به سلول‌ها، دمای آن با محیط کشت برابر شود.

اگرچه سرم‌های گرید بالینی استریل هستند، اما در صورت باز کردن بطری در محیط غیراستریل، توصیه می‌شود هنگام تهیه محیط کشت، سرم از یک فیلتر استریل‌ساز ۰٫۲ میکرون عبور داده شود (فیلتراسیون مجدد). پیشنهاد می‌شود که قبل از استفاده از یک دسته (Lot) جدید سرم در تولید انبوه یا آزمایش‌های حساس، حتماً یک تست کوچک (Pilot Test) انجام شود تا اطمینان حاصل کنید که سلول‌ها به این سرم واکنش منفی نشان نمی‌دهند (تست سازگاری)^۱ باید اطمینان حاصل شود که برند خاص از FBS با خط سلولی تجویزی در بیمار سازگاری دارد و باعث تغییر در فنوتیپ یا ژنوتیپ سلول‌ها نمی‌شود.

^۱ Compatibility

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

۵-۷- پاکسازی و حذف سرم (Removal & Purification)

این مهم‌ترین بخش در محصولات بیولوژیک است. FBS گرید بالینی نباید در محصول نهایی^۱ (محصول دارویی: DP) که به بیمار تزریق می‌شود، حضور داشته باشد.

شستشوی سلول‌ها (Washing): پس از کشت، سلول‌ها باید چندین بار با محلول‌های فیزیولوژیک (مانند PBS) شسته شوند تا پروتئین‌های سرم گاوی حذف شوند.

تست‌های باقی‌مانده (Residual Testing): محصول نهایی باید تست شود تا اطمینان حاصل گردد که هیچ آثار پروتئینی سرم گاوی در آن باقی نمانده است. وجود پروتئین‌های حیوانی در محصول نهایی می‌تواند باعث واکنش‌های ایمنی شدید یا شوک آنافیلاکتیک^۲ در بیمار شود.

اعتبارسنجی فرآیند شستشو (Washing Validation): پس از اتمام مرحله تکثیر، سلول‌ها باید طی یک پروتکل مکتوب و اعتبارسنجی شده، چندین مرتبه با محلول‌های فیزیولوژیک استاندارد) مانند سرم فیزیولوژیک یا بافر PBS فاقد کلسیم و منیزیم (شسته شوند. تعداد دفعات شستشو، حجم بافر مصرفی و سرعت سانتریفیوژ (در صورت کاربرد) باید به گونه‌ای بهینه‌سازی شود که ساختار فیزیکی و زنده‌مانی سلول‌ها حفظ شده و در عین حال، پروتئین‌های سطحی و معلق سرم تا حد مجاز کاهش یابند.

سنجش و پایش فرآیند پاکسازی (Clearance Evaluation): فرآیند شستشو باید نشان دهد که توانایی کاهش لگاریتمی (Log Reduction) آلاینده‌های سرمی را داراست. در سیستم‌های کشت صنعتی تعلیقی یا هم‌زده (Stirred Cultures) که خطر آسیب‌های مکانیکی بیشتر است، باید تعادل دلیلی بین راندمان شستشو و پایداری سلولی برقرار گردد.

آزمون‌های تعیین مقدار باقیمانده (Residual Testing): سنجش میزان بقایای پروتئین گاوی در محصول نهایی (Final Product) یا فرآورده دارویی (DP) الزامی است. این آزمون معمولاً با روش‌های کیفی و کمی بسیار حساس مانند تکنیک ELISA برای آلبومین سرم گاوی (BSA) یا سنجش‌های اتصال سطحی انجام می‌شود.

معیارهای پذیرش و حد مجاز (Acceptance Criteria): بر اساس استانداردهای بین‌المللی رگولاتوری (ICH و فارماکوپه‌ها)، حد مجاز باقیمانده سرم) به‌ویژه پروتئین شاخص (BSA) در محصول نهایی باید دقیقاً تعیین شود (به طور معمول

^۱ Final Product

^۲ Anaphylactic Shocks

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

کمتر از ۱ میکروگرم در هر دوز یا بر اساس مطالعات سم‌شناسی مشخص) و آزادسازی بچ (Batch Release) منوط به پاس شدن این آزمون خواهد بود .

۶-۷- ملاحظات ردیابی (Traceability)

در صورت بروز عوارض جانبی در بیمار، باید بتوان منبع سرم را ردیابی کرد. بنابراین: شماره لات (Lot Number) سرم استفاده شده باید دقیقاً در سوابق تولید (Batch Record) محصول بیولوژیک ثبت شود. نمونه‌ای از سرم (Retain Sample) باید تا زمان مصرف محصول نهایی توسط بیمار و مدتی پس از آن نگهداری شود.

۷-۷- موارد کاربرد بالینی سرم

- کشت انواع سلول‌های بنیادی، از جمله سلول‌های بنیادی خونساز (HSC)^۱، سلول‌های بنیادی پرتوان القائی (iPSCs)^۲، سلول‌های بنیادی مزانشیمی (MSCs)^۳، سلول‌های بنیادی جنینی (ESCs)^۴ و
- حمایت از رشد و تکثیر^۵، خودنوزادی^۶ و تمایز سلولی^۷
- تولید محصولات سلول درمانی^۸ (Cell Therapy Products)
- در محیط‌های GMP برای استفاده در کارآزمایی‌های بالینی
- تولید واکسن و پروتئین‌های نو ترکیب^۹
- به عنوان عامل محرک رشد در محیط‌های کشت سلولی با هدف استفاده درمانی
- استفاده در مطالعات پیش‌بالینی با درجه GLP

۸- استانداردهای لازم برای FBS بالینی

۸-۱- منشأ و ایمنی بیولوژیکی (Safety)

^۱ Hematopoietic Stem Cells (HSCs)
^۲ Induced Pluripotent Stem cells (iPSCs)
^۳ Mesenchymal Stem Cells (MSCs)
^۴ Embryonic Stem Cells (ESCs)
^۵ Growth and Proliferation

^۶ Self-renewal
^۷ Differentiation
^۸ Recombinant proteins
^۹ Recombinant proteins

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

- منبع تهیه و فرآوری و سورس مشخص اخذ سرم: می بایست فقط از کشورهای بدون سابقه بیماری‌های دامی (BSE, Foot and Mouth Disease) اخذ گردد.
- ردیابی منبع (Traceability): اطلاعات کامل دام، مزرعه و شرایط بهداشتی برای سرم‌های با منشأ گاوی ضروری است.
- انجام تست‌های ویروسی و میکروبی گسترده:

۸-۱-۱- تست‌های ویروسی:

تست‌های ویروسی به منظور شناسایی ویروس‌های مهم به شرح زیر ضروری است:

۸-۱-۱-۱- آدنوویروس گاوی (Bovine Adenovirus - BAdV):

این ویروس‌ها دارای DNA دو رشته‌ای هستند و در خانواده Adenoviridae قرار می‌گیرند. دو سرده اصلی برای آدنوویروس‌های گاوی وجود دارد که عبارتند از Mastadenovirus (آدنوویروس‌های پستانداران) و Atadenovirus. آدنوویروس‌های گاوی (BAdV) می‌توانند در گاوها به صورت عفونت‌های پایدار و بدون علامت (Latent) وجود داشته باشند. این بدان معناست که گاوی که ظاهراً سالم است، ممکن است حامل ویروس باشد. از آنجا که FBS از خون جنین گاو گرفته می‌شود، اگر مادر یا گله دامی آلوده باشند، خطر انتقال ویروس به سرم وجود دارد. بسیاری از آدنوویروس‌ها سلول‌های خاصی را آلوده می‌کنند. BAdV معمولاً در سلول‌های گاوی (مانند سلول‌های کلیه گاو) تکثیر می‌یابد. در استانداردهایی مانند ICH Q5A، برای اطمینان از ایمنی، باید از سلول‌های نشانه‌ای (Indicator Cells) مناسب استفاده شود تا اگر ویروسی در سرم وجود دارد که در سلول‌های اصلی رشد نمی‌کند، در این سلول‌های آزمایشی شناسایی شود. از آنجا که سرم گاوی جنین (FBS) از جنین گاو تهیه می‌شود، وجود آدنوویروس گاوی در گله‌های دامی می‌تواند منجر به آلودگی سرم شود. در صورت استفاده از سرم جنینی گاوی، این ویروس یکی از عوامل بیماری‌زا در گاوها است که می‌تواند باعث بیماری‌های تنفسی، گوارشی و عفونت‌های عمومی شود. بر طبق استانداردهای ICH Q5A و راهنماهای مربوط به ایمنی ویروسی، آدنوویروس‌های گاوی به عنوان پاتوژن‌های بالقوه در نظر گرفته می‌شوند که باید در فرآیند تولید و تست سرم بررسی شوند. بنابراین انجام تست‌های کشت سلولی برای شناسایی این ویروس روی سرم ضروری به نظر می‌رسد.

اگر BAdV در FBS یا محیط کشت وجود داشته باشد و شناسایی نشود، می‌تواند به کشت سلول‌های انسانی (که برای تولید دارو استفاده می‌شوند) منتقل شود. این یک "آلودگی خارجی" (Adventitious Agent) محسوب می‌شود که می‌تواند ایمنی بیمار را به خطر بیندازد و باعث رد شدن محصول نهایی توسط نهادهای نظارتی شود.

۸-۱-۱-۲- ویروس عامل (BHV-1):



راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

۳-۱-۱-۸- ویروس عامل بیماری «اسهال ویروسی گاوی (BVDV):

از خانوادهٔ ویروسهای Flaviviridae بوده و دارای ژنوم RNA تک‌ رشته‌ ای است. نکتهٔ مهم در مورد این ویروس، آلودگی مداوم (PI - Persistent Infection) است. اگر گاو باردار در مراحل اولیه بارداری (ماه اول تا سوم) با BVDV آلوده شود، جنین می‌ تواند آلوده شود اما سیستم ایمنی جنین ویروس را به عنوان "خودی" شناسایی می‌ کند. این گوساله متولد شده، حامل دائمی (PI) است و تمام عمر ویروس را در خون و بافت‌ های خود دفع می‌ کند. از آنجا که FBS از خون جنین گاو گرفته می‌ شود، اگر جنین حامل PI باشد، سرم حاوی مقدار بسیار بالایی ویروس زنده خواهد بود. این خطر در سایر ویروس‌ ها مانند IBR کمتر است، زیرا آن‌ ها معمولاً باعث آلودگی دائمی جنین نمی‌ شوند. به دلیل خطر بالا، تست BVDV سخت‌ گیرانه‌ ترین تست در تأییدیه‌ های FBS است.

تمامی استانداردهای بین‌ المللی (مانند اتحادیه اروپا، USDA 9CFR و راهنمای EMEA) وجود BVDV را در FBS ممنوع می‌ کنند. روش‌ های شناسایی این ویروس عبارتند از روش کشت سلولی (Cell Culture) و استفاده از سلول‌ های حساس برای مشاهده اثر

حیوانات اهمیت دارد. این قوانین استانداردهایی را برای تولید، تست، صدور مجوز و توزیع محصولات بیولوژیک دامپزشکی و برخی محصولات مشتق شده از حیوانات که ممکن است در انسان نیز استفاده شوند، تعیین می‌کند.

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

سیتوپاتیک (CPE)؛ تست ایمنوفلورسانس (Immunofluorescence)، برای شناسایی آنتی ژن ویروس در سلول‌های آلوده؛ و آزمایش PCR (Real-time RT-PCR)، به منظور تشخیص RNA ویروس که بسیار حساس‌تر از روش‌های کشت سنتی است و در FBS گرید بالینی الزامی است. در محصولات درمانی، مانند سار ویروس‌ها، حضور این ویروس حیوانی نیز در محصول نهایی یک نقص ایمنی بحرانی محسوب می‌شود.

۸-۱-۲- تست‌های میکروبی:

۸-۱-۲-۱- مایکوپلاسما:

مایکوپلاسما (Mycoplasma) گروهی از باکتری‌های بسیار کوچک و بدون دیواره سلولی هستند که یکی از بزرگترین چالش‌ها در صنعت بیوتکنولوژی، کشت سلول و تولید محصولات بیولوژیک محسوب می‌شوند. مایکوپلاسماها ویژگی‌های منحصر به فردی دارند، از جمله اینکه فاقد دیواره سلولی هستند. از آنجا که دیواره سلولی ندارند، به بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌های رایج (مانند پنی‌سیلین و سفالوسپورین‌ها) که روی دیواره سلولی اثر می‌کنند، مقاوم هستند. اندازه بسیار کوچک دانرد. قطر آن‌ها حدود ۰٫۱ تا ۰٫۳ میکرون است (کوچکتر از باکتری‌های معمولی). این ویژگی باعث می‌شود که از فیلترهای استریل‌ساز معمولی (۰٫۲ میکرون) عبور کنند. دارای انعطاف‌پذیری هستند. به دلیل نداشتن دیواره سخت، می‌توانند تغییر شکل دهند و به راحتی از منافذ عبور کنند. مایکوپلاسماها به عنوان "آلاینده‌های پنهان" شناخته می‌شوند. برخلاف بسیاری از باکتری‌ها یا قارچ‌ها که محیط کشت را کدر می‌کنند، آلودگی مایکوپلاسما معمولاً با چشم غیر مسلح قابل تشخیص نیست و محیط کشت شفاف باقی می‌ماند. مایکوپلاسما روی سلول‌های یوکاریوتی اثرات مخربی دارد، به طوریکه می‌تواند منجر به تغییر در متابولیسم و رشد سلول. تغییر در بیان ژن و تولید پروتئین و همچنین توقف در تقسیم سلولی یا مرگ سلولی گردد. در تولید داروهای زیستی (مانند آنتی‌بادی‌های مونوکلونال)، وجود مایکوپلاسما می‌تواند کیفیت و اثربخشی دارو را به شدت کاهش دهد.

کنترل مایکوپلاسما یکی از الزامات اصلی در تولید محصولات بیولوژیک است. بر طبق استانداردهای تست (USP<63> و ICH Q5B)، روش‌های استاندارد برای تست مایکوپلاسما مشخص شده است که عبارتند از روش کشت (Culture Method)، کشت نمونه در محیط‌های مایع و جامد اختصاصی (مانند آگار فریس) تا ۲۸ روز صورت می‌گیرد و این روش به عنوان روش طلایی و استاندارد (Gold Standard) در نظر گرفته می‌شود اما زمان‌بر است. روش دیگر، روش اندیکاتور سلولی (Indicator Cell Culture)، یا inoculate کردن نمونه روی یک لایه سلولی و بررسی زیر میکروسکوپ الکترونی یا رنگ‌آمیزی برای مشاهده مایکوپلاسما روی سطح سلول‌ها است. روش دیگر، روش PCR و استفاده از روش‌های مولکولی (مانند PCR کیفی) است که سریع‌تر هستند (مثلاً ۱ روزه) و حساسیت بالایی دارند. در استانداردهای جدید، جایگزینی یا مکمل شدن روش‌های کشت با PCR مورد تأیید قرار گرفته است.

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

در FBS با گرید بالینی (Clinical-Grade)، تست مایکوپلازما بسیار سخت‌گیرانه است و سرم باید دارای گواهی "منفی بودن مایکوپلازما" باشد. معمولاً فیلتراسیون با منافذ بسیار ریز (۰,۱ میکرون) برای حذف مایکوپلازما از FBS استفاده می‌شود، زیرا فیلترهای معمولی ۰,۲ میکرون قادر به حذف آن نیستند.

۹- تولید تحت استانداردهای GMP

تولید سرم خصوصاً سرم گاوی جنین (FBS) یا سایر سرم‌های بیولوژیک تحت استانداردهای GMP، فرآیندی بسیار دقیق و ساختاریافته است که هدف آن تضمین کیفیت، ایمنی و یکنواختی محصول نهایی برای استفاده در محصولات دارویی انسانی است. برخلاف سرم‌های گرید تحقیقاتی (Research Grade) که ممکن است تنوع کیفی داشته باشند، سرم تولید شده تحت GMP باید از بالاترین سطح کنترل برخوردار باشد. الزامات کلیدی تولید سرم تحت استانداردهای GMP به شرح زیر است:

۹-۱- منشأ و انتخاب گله (Herd Selection & Traceability)

کشور مبدا: گله‌های دامی باید از کشورهایی با وضعیت بهداشتی مناسب (مثلاً فاقد بیماری‌های جنون گاوی BSE یا تب دهان) انتخاب شوند.

شناسایی و ردیابی: هر بطری سرم باید قابل ردیابی تا کشتارگاه و حتی گله مادر باشد. این شامل شناسه منحصر به فرد (Lot Number) است.

وضعیت سلامت گله: گله‌ها باید تحت نظارت دامپزشکی دائمی باشند و از نظر بیماری‌های خاص (مانند BVDV, IBR, BLV) تست شده باشند.

۹-۲- جمع‌آوری استریل (Collection)

محیط جمع‌آوری: سوزن‌زنی و جمع‌آوری خون از جنین گاو (در مورد سرم‌های گاوی) باید در محیطی کنترل شده و تمیز انجام شده باشد تا از آلودگی اولیه باکتریایی جلوگیری شود.

جلوگیری از همولیز: خون باید با دقت جمع‌آوری شده باشد تا گلبول‌های قرمز پاره نشوند (همولیز نشود)، زیرا همولیز کیفیت سرم را کاهش می‌دهد.

۹-۳- پردازش و تصفیه (Processing)

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

انعقاد و جداسازی: خون اجازه داده می‌شود تا منعقد شود و سپس سرم با سانتریفیوژ از لخته خون جدا می‌شود.

فیلتراسیون (Filtration): این مرحله حیاتی‌ترین بخش برای حذف آلاینده‌ها است:

فیلتراسیون پیش تصفیه: برای حذف ذرات بزرگ.

فیلتراسیون استریل کننده (۰.۲ میکرومتر): برای حذف باکتری‌ها و قارچ‌ها.

نانوفیلتراسیون (Nanofiltration - اختیاری اما برای گرید بالینی توصیه می‌شود): استفاده از فیلترهای ۲۰ تا ۴۰ نانومتر برای حذف مایکوپلازما و برخی ویروس‌ها (مانند BVDV و پاروویروس).

۹-۴ - غیرفعال سازی ویروسی (Viral Inactivation)

برای اطمینان از ایمنی ویروسی، معمولاً از روش پرتودهی گاما^۱ استفاده می‌شود. استفاده از دوزهای مشخص (مثلاً ۲۵ تا ۵۰ کیلوگری) برای از بین بردن توانایی تکثیر ویروس‌ها و پاتوژن‌های پنهان پیشنهاد و این روش در سرم‌های با گرید بالینی بسیار رایج است.

۹-۵ - کنترل کیفیت و تست‌ها (Quality Control Testing)

هر دسته (Batch) از سرم قبل از آزادسازی باید مجموعه‌ای از تست‌های گسترده را طبق استانداردهایی مانند USP و ICH احراز نماید:

- **تست استریلیته (>USP71):** اثبات عدم وجود باکتری‌ها و قارچ‌ها.
- **تست مایکوپلازما (>USP63):** اثبات عدم وجود مایکوپلازما (معمولاً با روش PCR).
- **تست ویروس‌ها (ICH Q5A):** تست برای ویروس‌های گاوی مانند BVDV, BHV-1 (IBR), BPV و سایر آلاینده‌های خارجی.
- **تست اندوتوکسین (>USP85):** اطمینان از اینکه سطح اندوتوکسین بسیار پایین است.
- **عملکرد بیولوژیکی (Bioassay):** تست رشد سلول‌ها در سرم برای اطمینان از اینکه کیفیت رشد (Growth Promotion) مطلوب است.

۹-۶ - بسته‌بندی و برچسب‌گذاری (Packaging & Labeling)

ظروف: استفاده از بطری‌های استریل و پیرکس (شیشه‌ای) یا پلیمری مناسب که با محتوا واکنش نمی‌دهند.

¹ Gamma Irradiation

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

برچسب‌گذاری^۱: باید شامل نام محصول، شماره لات، تاریخ انقضا، شرایط نگهداری و عبارت "Clinical Grade" یا "Grade GMP" باشد.

۹-۷- مستندسازی (Documentation)

دفترچه تولید (Batch Record): تمام مراحل، از زمان جمع‌آوری تا شرایط دما و نتایج تست‌ها باید به طور دقیق مستند شود. گواهی تحلیل (CoA): یک سند رسمی که نتایج تست‌های کیفی^۲ آن دسته خاص را تأیید می‌کند و به مشتری ارائه می‌گردد.

۹-۸- ممیزی و بازرسی (Audits)

تولیدکنندگان سرم GMP بازرسی‌هایی شامل بررسی سیستم‌های کیفیت، امکانات و سوابق را مد نظر قرار خواهند داد. یکی از مشخصات کیفی بسیار مهم خصوصاً در سرم‌های گاوی جنین (FBS)، عدم وجود آنتی‌بیوتیک‌ها است، به ویژه زمانی که این سرم برای تولید محصولات بیولوژیک بالینی (Clinical-Grade) یا سلول درمانی استفاده می‌شود. آنتی‌بیوتیک‌ها و مواد شیمیایی می‌توانند باعث مرگ سلولی یا تغییر در فنوتیپ سلول‌ها شوند. برای درمان‌های سلولی، سلول‌ها باید در سالم‌ترین حالت ممکن باشند. سازمان‌هایی مانند FDA و EMA تأکید دارند که مواد اولیه مورد استفاده در تولید داروهای انسانی نباید حاوی موادی باشند که ایمنی بیمار را به خطر بیندازند. سرم «بدون آنتی‌بیوتیک» (Antibiotic-Free) یک الزام استاندارد برای FBS گرید بالینی است. "عدم وجود آنتی‌بیوتیک‌ها و مواد شیمیایی مضر" تضمین می‌کند که سرم خالص، طبیعی و ایمن است. این ویژگی از پنهان ماندن آلودگی‌ها جلوگیری می‌کند، خطر واکنش‌های آلرژیک را کاهش می‌دهد و از سمیت برای سلول‌های انسانی که برای درمان بیمار استفاده می‌شوند، جلوگیری خواهد کرد.

۹-۸-۱- عدم وجود آنتی‌بیوتیک‌ها (Antibiotic-Free)

بسیاری از سرم‌های تحقیقاتی (Research Grade) حاوی آنتی‌بیوتیک‌هایی مانند پنی‌سیلین و استرپتومایسین هستند تا از رشد باکتری‌ها در محیط کشت جلوگیری کنند. اما در تولید دارو، وجود آنتی‌بیوتیک ممنوع بوده و یا می‌بایست بسیار محدود باشد. مخفی شدن آلودگی (Masking Contamination): الزاماً آنتی‌بیوتیک‌ها باکتری‌ها را نمی‌کشند، بلکه ممکن است فقط رشد آن‌ها را متوقف می‌کنند. اگر سرم حاوی آنتی‌بیوتیک باشد، ممکن است یک آلودگی باکتریایی خفیف در محیط کشت وجود داشته باشد اما شناسایی نشود. وقتی دارو به بیمار تزریق می‌شود و اثر آنتی‌بیوتیک از بین می‌رود، باکتری دوباره رشد کرده و باعث عفونت می‌شود.

¹ Labeling

² Quality tests

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

همچنین ممکن است بیماران به آنتی بیوتیک ها حساسیت داشته باشند و در نتیجه واکنش های آلرژیک از خود نشان می دهند. وجود حتی مقادیر کمی از آنتی بیوتیک در محصول نهایی دارو می تواند باعث شوک آنافیلاکتیک یا واکنش های ایمنی شدید در دریافت کننده فرآورده شود. همچنین وجود آنتی بیوتیک می تواند تداخل با تست های استرلیته ایجاد نماید. طبق استانداردهای USP <71>، وجود آنتی بیوتیک در نمونه می تواند نتایج تست استرلیته را مخدوش کند و باعث نتایج منفی کاذب شود. همچنین استفاده بی رویه از آنتی بیوتیک ها در محیط های کشت می تواند به ایجاد باکتری های مقاوم کمک کند.

روش های اطمینان از عدم وجود این مواد مطرح شده است که می تواند مورد استفاده قرار گیرد که عبارتند از تست های میکروبیولوژیک، برای اطمینان از عدم نیاز به آنتی بیوتیک و عدم وجود آلودگی پنهان؛ تست های سمیت (Cytotoxicity Tests)، با کشت سلول های حساس در سرم برای اطمینان از اینکه رشد و تقسیم سلولی مهار نمی شود و تست های شیمیایی و استفاده از روش هایی مانند HPLC یا طیف سنجی برای شناسایی و اندازه گیری آلاینده های شیمیایی.

۲-۸-۹- عدم وجود مواد شیمیایی مضر (Absence of Harmful Chemicals)

مواد شیمیایی مضر ممکن است از فرآیند تولید سرم (مانند جمع آوری یا تصفیه) وارد آن شوند یا به عنوان افزودنی استفاده شوند. این مواد شامل موارد زیر هستند:

مواد نگهدارنده (Preservatives): موادی مانند سدیم آزید (Sodium Azide) یا تیموسول (Thimerosal) که گاهی برای جلوگیری از رشد قارچ در سرم های ارزان قیمت استفاده می شوند، برای سلول های انسانی سمی (Toxic) هستند و می توانند متابولیسم سلولی را مختل کنند.

مواد شیمیایی مورد استفاده در فرآیند پردازش (Processing Chemicals): باقیمانده ری ایجنت های مورد استفاده در طی فرآیند پردازش، حلال ها و یا مواد استفاده شده در فرآیند فیلتراسیون که اگر به درستی شسته نشوند، می توانند برای سلول ها سمی باشند.

۱۰- کیفیت شیمیایی و عملکردی

کیفیت شیمیایی و عملکردی سرم (به ویژه سرم گاوی جنین یا FBS) دو ستون اصلی در ارزیابی و تأیید یک محصول بیولوژیک هستند. در استانداردهای GMP، این دو پارامتر تعیین می کنند که آیا سرم برای تولید دارو یا محصولات سلولی مناسب است یا خیر. کیفیت شیمیایی، تضمین می کند که سرم خالص، استریل و دارای ترکیبات یونی و پروتئینی صحیح است (تست های آزمایشگاهی). کیفیت عملکردی، تضمین می کند که سرم، رشد و سلامت سلول ها را تضمین می نماید (تست های بیولوژیک).

۱-۱۰- کیفیت شیمیایی (Chemical Quality)

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

کیفیت شیمیایی به بررسی ترکیبات مولکولی و فیزیکی سرم می‌پردازد تا اطمینان حاصل شود که سرم خالص بوده و حاوی ناخالصی‌های خطرناک نمی‌باشد. این بخش می‌تواند شامل تست‌های زیر است:

۱-۱-۱۰- پروفایل پروتئینی (Protein Profile):

محدوده ۳,۵ تا ۵ گرم در دسی‌لیتر (g/dL) برای میزان پروتئین کل (تام) در سرم گاوی جنین (FBS) یک استاندارد کیفی معتبر و پذیرفته شده است، به ویژه برای سرم‌های با گرید بالینی (Clinical-Grade) و گرید فوق‌العاده (Premium Grade). حفظ این محدوده اهمیت دارد. حفظ غلظت پروتئین تام در این محدوده نشان‌دهنده خلوص و کیفیت جمع‌آوری سرم است. پروتئین‌های سرم عمدتاً شامل آلبومین و گلوبولین‌ها هستند. اگر میزان پروتئین کمتر از ۳,۵ g/dL باشد، ممکن است نشان‌دهنده مواردی از قبیل رقیق شدن سرم با مایعات دیگر (Adulteration)، همولیز شدید (پارگی گلبول‌های قرمز و از دست رفتن پروتئین‌های پلاسما)، و کیفیت پایین جنین یا تغذیه نامناسب مادر باشد همچنین حفظ غلظت در این محدوده، نشان‌دهنده غلظت مناسب فاکتورهای رشد است. پروتئین‌ها حامل فاکتورهای رشد، هورمون‌ها و ویتامین‌های محلول در چربی هستند. محدوده ۳,۵ تا ۵ گرم در دسی‌لیتر نشان می‌دهد که سرم غنی از این ترکیبات حیاتی است.

همچنین حفظ غلظت در این محدوده، نشان‌دهنده حفظ محیط فیزیولوژیک سرم است: این محدوده بسیار نزدیک به غلظت پروتئین در خون طبیعی گاو و انسان است. استفاده از سرم با این غلظت پروتئین، اسمولالیت و فشار اسمزی (Osmolarity) محیط کشت را در حد فیزیولوژیک نگه می‌دارد که برای سلامت غشای سلولی و انتقال مواد ضروری است.

همچنین به پایداری محیط کشت کمک می‌نماید. پروتئین‌ها به عنوان بافر عمل کرده و از تغییرات ناگهانی pH و دما جلوگیری می‌کنند. محدوده ۳,۵-۵ g/dL پایداری کافی را برای کشت‌های سلولی طولانی‌مدت فراهم می‌کند.

سرم‌های بی‌کیفیت یا ارزان‌قیمت ممکن است پروتئین کمتری داشته باشند (مثلاً زیر ۳ g/dL). این سرم‌ها معمولاً عملکرد ضعیف‌تری در تکثیر سلول دارند و ممکن است نیاز به غنی‌سازی با مواد دیگر داشته باشند. در مقابل، سرم‌های Ultra-low IgG یا سرم‌های خاص برای کاربردهای بسیار حساس ممکن است پروفایل پروتئینی متفاوتی داشته باشند، اما برای FBS استاندارد، محدوده ۳,۵-۵ g/dL ایده‌آل است.

در آزمایشگاه‌های کنترل کیفیت (QC)، میزان پروتئین کل معمولاً با یکی از روش‌های مختلفی اندازه‌گیری می‌شود که عبارتند از روش بیورت (Biuret Method)، که روش استاندارد برای اندازه‌گیری پروتئین کل (تام) است؛ و روش رفکتومتر (Refractometer)، که یک روش سریع برای تخمین غلظت پروتئین بر اساس شکست نور می‌باشد.

۱-۱-۱۰-۱- آلبومین و گلوبولین:



راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

١-١-١-١-١- ألبومين (Albumin)

۲-۱-۱-۱-۱۰ - گلوبولین ہا (Globulins)

در سرم گاوی جنین (FBS)، سطح گاما گلوبولین (IgG) باید بسیار پایین باشد و دلیل آن اینست که جنین در رحم دارای سیستم ایمنی بالغ نیست و آنتی‌بادی مادر از جفت گاو نمی‌گذرد. بنابراین، FBS به طور طبیعی باید کمتر از ۱۰ تا ۲۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر IgG داشته باشد. اگر سطح گلوبولین (به ویژه IgG) در FBS بالا باشد، نشانه آلودگی با خون مادر (Maternal Blood Contamination) در هنگام سوزن‌زنی است. این یک نقص کیفی محسوب می‌شود زیرا آنتی‌بادی‌های گاوی می‌توانند با سلول‌های انسانی تداخل داشته باشند.

۳-۱-۱-۱-۱۰- نسبت آلومین به گلوپولین (A/G Ratio)

۱۴۶

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

این نسبت یک شاخص مهم در کنترل کیفیت سرم بوده و محدوده نرمال آن در FBS معمولاً عددی بین ۱,۵ تا ۳,۰ است (یعنی آلبومین بسیار بیشتر از گلوبولین است). نسبت پایین نشان‌دهنده افزایش گلوبولین (که ممکن است به دلیل آلودگی خون مادر یا التهاب باشد) یا کاهش آلبومین (که نشان‌دهنده تغذیه ضعیف جنین است) می‌باشد. نسبت بالا، نشان‌دهنده سرم بسیار خالص با حداقل آلودگی‌های ایمنی است.

روش‌های اندازه‌گیری این شاخص‌های پروتئینی عبارتند از الکتروفورز پروتئین (Protein Electrophoresis)، که یک روش استاندارد برای جدا کردن پروتئین‌ها بر اساس بار الکتریکی و اندازه و رسم نمودار پروتئین‌های سرم^۱ (Serum Protein Electrophoresis - SPEP) است. این نمودار قله‌های مجزای آلبومین، آلفا، بتا و گاما را نشان می‌دهد. همچنین این روش به منظور بررسی الگوی پروتئین‌ها برای اطمینان از عدم وجود پروتئین‌های غیرطبیعی یا آلودگی‌های پروتئینی دیگر نیز به کار می‌رود؛ و روش‌های بیوشیمیایی رنگ‌سنجی، که برای اندازه‌گیری مستقیم آلبومین و محاسبه گلوبولین‌ها با کسر کردن آن از پروتئین کل می‌باشد.

۲-۱-۱۰- غلظت یون‌ها و الکترولیت‌ها:

حفظ تعادل دقیق یون‌ها و الکترولیت‌ها در سرم برای حیات سلولی ضروری است. هرگونه انحراف از محدوده‌های استاندارد می‌تواند منجر به استرس اسمزی، مرگ سلولی یا رشد ناکافی سلول‌ها شود. بنابراین، این پارامترها بخش ثابتی از گواهی تحلیل (COA) آسرم‌های گرید بالینی هستند.

اندازه‌گیری دقیق غلظت یون‌ها و الکترولیت‌ها در سرم گاوی جنین (FBS) یکی از ارکان کنترل کیفیت شیمیایی است. این یون‌ها نقش‌های حیاتی در تنظیم فشار اسمزی، تعادل pH، انتقال سیگنال‌ها و سلامت غشای سلولی ایفا می‌کنند. اندازه‌گیری دقیق سطوح سدیم، پتاسیم، کلسیم، منیزیم و کلر در سرم حائز اهمیت است. تغییرات شدید در این یون‌ها می‌تواند باعث مرگ سلولی یا تغییر در عملکرد سلول‌ها شود.

۱-۲-۱-۱۰- یون سدیم (Na⁺):

محدوده استاندارد: معمولاً بین ۱۳۵ تا ۱۵۰ میلی‌مولار (mM) یا معادل آن در mg/dL.

نقش: اصلی‌ترین کاتیون در مایعات خارج سلولی است. مسئول تنظیم فشار اسمزی (Osmolarity) و تعادل آب در سلول است. **اهمیت:** اگر غلظت سدیم خیلی زیاد باشد، سلول‌ها آب از دست داده و چروک^۳ می‌شوند (هایپرتونیک^۴). اگر کم باشد، سلول‌ها متورم و می‌ترکند (هایپوتونیک).

^۱ Serum Protein Electrophoresis - SPEP
^۲ Certificate of Analysis

^۳ Shrinkage
^۴ Hypertonic

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

۲-۱-۱۰-۲-۲- یون پتاسیم (K^+):

محدوده استاندارد: معمولاً بین ۳,۵ تا ۶,۰ میلی‌مولار (mM).

نقش: اصلی‌ترین یون درون سلولی است. برای تنظیم پتانسیل غشایی، ضربان قلب (در بدن حیوان) و انتقال مواد ضروری است. اهمیت: سطح بالای پتاسیم ممکن است نشان‌دهنده همولیز (پارگی گلبول‌های قرمز و خروج یون‌های درون‌سلولی به سرم) باشد که یک نشانه کیفیت پایین در فرآیند جمع‌آوری است.

۳-۱-۱۰-۲-۳- یون کلر (Cl^-):

محدوده استاندارد: معمولاً بین ۹۵ تا ۱۱۰ میلی‌مولار (mM).

نقش: اصلی‌ترین آنیون در مایعات بدن است. همراه با سدیم عمل می‌کند تا تعادل الکترولیتی و فشار اسمزی را حفظ کند.

۴-۱-۱۰-۲-۴- یون کلسیم (Ca^{2+}):

محدوده استاندارد: معمولاً بین ۱,۵ تا ۳,۰ میلی‌مولار (mM).

نقش: نقش کلیدی در چسبندگی سلولی (Cell Adhesion)، اتصال سلول‌ها به هم و به سطح ظرف کشت دارد. همچنین برای انتقال سیگنال‌های داخل سلولی و فعالیت آنزیم‌ها ضروری است. اهمیت: کمبود کلسیم می‌تواند باعث جدا شدن سلول‌ها از سطح کشت (Detachment) شود.

۵-۱-۱۰-۲-۵- یون منیزیم (Mg^{2+}):

محدوده استاندارد: معمولاً بین ۰,۵ تا ۱,۵ میلی‌مولار (mM).

نقش: کوفاکتور برای بیش از ۳۰۰ آنزیم مختلف است. برای تولید پروتئین، تثبیت DNA و غشای سلولی ضروری است.

۶-۱-۱۰-۲-۶- یون فسفات (PO_4^{3-}):

محدوده استاندارد: معمولاً بین ۲,۵ تا ۵,۰ میلی‌مولار (mM).

نقش: منبع اصلی فسفر برای تولید ATP (انرژی سلول) و فسفولیپیدهای غشای سلولی است.

۳-۱-۱۰-۱- اسمولالیته (Osmolality):

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

مجموع غلظت این یون‌ها مستقیماً اسمولالیت سرم را تعیین می‌کند. اسمولالیت استاندارد سرم باید در محدوده ۲۸۰ تا ۳۲۰ mOsm/kg باشد تا با محیط فیزیولوژیک سلول‌های انسانی سازگار باشد. اسمولالیت معیاری برای اندازه‌گیری تعداد ذرات حل شده در یک محلول است و فشار اسمزی (جذب آب توسط سلول) را تعیین می‌کند. محدوده استاندارد و اسمولالیت استاندارد FBS معمولاً در محدوده ۲۸۰ تا ۳۲۰ میلی‌اسموس بر کیلوگرم (mOsm/kg) در نظر گرفته شده است. اهمیت بیولوژیکی حفظ این محدوده اسمولالیت حفظ ثبات محیط داخلی سلول به دنبال مواجهه با سرم است. غشای سلولی نیمه‌تراوا است. اگر اسمولالیت محیط کشت (که سرم بخشی از آن است) با اسمولالیت درون سلول برابر نباشد، آب به شدت جابه‌جا می‌شود. محیط هایپرتونیک (بیش از حد غلیظ) و در شرایطی که اسمولالیت خیلی بالا باشد، آب از سلول خارج شده و سلول چروک (Shrinkage) می‌شود. محیط هایپوتونیک (بیش از حد رقیق و در شرایطی که اسمولالیت خیلی پایین باشد، آب وارد سلول شده، سلول متورم شده و ممکن است بترکد (Lysis). اسمولالیت مستقیماً توسط غلظت یون‌ها (سدیم، پتاسیم، کلر) و گلوکز تعیین می‌شود. بنابراین اگر الکترولیت‌ها در محدوده استاندارد باشند، اسمولالیت نیز معمولاً طبیعی است. روش اندازه‌گیری اسمولالیت با استفاده از دستگاه اسمومتر (Osmometer) که معمولاً بر اساس نقطه انجماد محلول کار می‌کند، می‌باشد.

نشان‌دهنده همولیز: تغییرات ناگهانی در نسبت پتاسیم به سدیم (افزایش پتاسیم و کاهش سدیم) یکی از حساس‌ترین نشانه‌های همولیز (آسیب به گلبول‌های قرمز) در هنگام جمع‌آوری سرم است. سرم همولیز شده کیفیت پایینی دارد و می‌تواند برای سلول‌ها سمی باشد.

تکنیک اندازه‌گیری: این یون‌ها معمولاً با استفاده از دستگاه‌های الکترولیت‌سنج (Electrolyte Analyzer) با استفاده از الکترودهای اختصاصی (ISE)^۱ اندازه‌گیری می‌شوند.

۱-۱-۴-۱-۰- سطح قند (Glucose/Lactate):

اندازه‌گیری سطح قند (گلوکز) و لاکتات در سرم گاوی جنین (FBS) یک شاخص حیاتی برای ارزیابی کیفیت فرآیند جمع‌آوری، وضعیت متابولیک جنین و سلامت کلی سرم است. بررسی گلوکز و لاکتات در FBS مانند بررسی "برچسب انرژی" سرم است. گلوکز کافی سوخت لازم را برای رشد و تکثیر سلول فراهم می‌کند و لاکتات پایین تضمین می‌کند که سرم از جنین سالمی گرفته شده و فاسد نشده است. این پارامترها در کنترل کیفیت شیمیایی سرم‌های گرید بالینی بسیار مهم هستند.

۱-۱-۴-۱-۰- سطح گلوکز (Glucose Level):

¹ Ion-Selective Electrodes

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

گلوکز منبع اصلی انرژی برای سلول‌ها در محیط کشت است. محدوده استاندارد: معمولاً در محدوده ۵۰ تا ۱۵۰ میلی گرم در دسی لیتر (mg/dL) یا معادل آن (۲,۸ تا ۸,۳ میلی مولار) گزارش می شود. گلوکز به عنوان منبع انرژی، برای متابولیسم سلولی و تولید ATP ضروری است. سطح کافی گلوکز در سرم تضمین می کند که سلول‌ها در مراحل اولیه کشت دچار گرسنگی انرژی نمی شوند. همچنین سطوح طبیعی گلوکز نشان دهنده سلامت جنین بوده و سطح پایین غیرطبیعی گلوکز ممکن است نشان دهنده سوء تغذیه مادر، استرس شدید جنین یا مرگ جنین قبل از جمع آوری باشد.

سطح لاکتات (Lactate Level)

لاکتات (اسید لاکتیک) محصول نهایی متابولیسم بی هوازی (گلیکولیز) است. سطح آن در سرم بسیار حساس است. لاکتات (اسید لاکتیک) محصول نهایی متابولیسم بی هوازی (گلیکولیز) بوده و سطح آن نیز در سرم بسیار حساس است. سطح بالای لاکتات ممکن است نشان دهنده تخریب و degeneration سرم یا متابولیسم باکتریایی قبل از انجماد باشد. محدوده استاندارد لاکتات معمولاً باید کمتر از ۲۰ تا ۴۰ میلی گرم در دسی لیتر (mg/dL) باشد. (سرم‌های باکیفیت بالا لاکتات بسیار پایینی دارند). اگر جنین در رحم دچار کمبود اکسیژن (Hypoxia) یا استرس شدید شود، متابولیسم آن به سمت تولید لاکتات می رود. سطح بالای لاکتات در سرم نشانه شرایط نامناسب قبل از جمع آوری است. همچنین، پار شدن گلبول‌های قرمز (همولیز) باعث آزاد شدن لاکتات و سایر متابولیت‌ها در سرم می شود. بنابراین لاکتات بالا می تواند نشانه کیفیت پایین فرآیند سوزن زنی به منظور اخذ خون باشد. سطح بسیار بالای لاکتات می تواند pH محیط کشت را کاهش داده و برای سلول‌های حساس سمی باشد.

۲-۴-۱-۱۰- نسبت گلوکز به لاکتات (Glucose/Lactate Ratio)

این نسبت یک شاخص کیفی دقیق تر از بررسی تک تک این دو پارامتر است. نسبت بالا، نشان دهنده سرم تازه، سالم و با کیفیت بالا است که جنین در شرایط فیزیولوژیک طبیعی قرار داشته است و نسبت پایین، نشان دهنده استرس متابولیک، فساد احتمالی یا همولیز است. سرم‌های با سطح گلوکز متعادل و لاکتات پایین، پایداری بیشتری برای نگهداری بلندمدت سلول‌ها فراهم می کنند.

۳-۴-۱-۱۰- روش‌های اندازه گیری

آنزیم‌های اکسیداز/دهیدروژناز: روش رایج در دستگاه‌های خودکار بیوشیمیایی است. در این روش، آنزیم‌های خاص با گلوکز یا لاکتات واکنش داده و تولید رنگ می کنند که شدت آن با غلظت ماده رابطه مستقیم دارد.

الکترودهای آنزیمی: مشابه ISE (Ion-Selective Electrodes) (الکترودهای انتخاب گر یون)، اما با غشای پوشیده از آنزیم (مثلاً گلوکز اکسیداز) که فقط به گلوکز حساس است، صورت می گیرد.

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

۵-۱-۱۰- pH

pH و اسمولالیت (Osmolality) دو پارامتر فیزیوشیمیایی حیاتی در سرم گاوی جنین (FBS) هستند که مستقیماً بر زنده ماندن، رشد و عملکرد سلول‌ها تأثیر می‌گذارند. هرگونه انحراف از محدوده فیزیولوژیک می‌تواند باعث استرس یا مرگ سلولی شود. یکی از بزرگترین چالش‌ها، حفظ pH و اسمولالیت یکسان در بین دسته‌های مختلف (Batch-to-Batch) است (ثبات یا Consistency).

۱-۵-۱۰-۱- pH سرم:

pH نشان‌دهنده میزان اسیدیته یا بازی بودن سرم بوده و محدوده استاندارد pH طبیعی FBS معمولاً در محدوده ۷٫۲ تا ۷٫۶ است. (بسیار نزدیک به pH خون انسان که ۷٫۴ است). اهمیت بیولوژیکی حفظ pH استاندارد این است که در حوزه آنزیم‌ها و متابولیسم، اکثر آنزیم‌های سلولی فقط در محدوده pH خنثی و کمی بازی به درستی کار می‌کنند. تغییر pH می‌تواند سرعت واکنش‌های شیمیایی در سلول را مختل نماید. حفظ pH اپتیمم در حفظ ساختار پروتئین‌ها نقش اساسی داشته و تغییرات شدید pH می‌تواند باعث دناتوره شدن (از بین رفتن ساختار) پروتئین‌های سرم و فاکتورهای رشد شود. سرم در معرض هوا (حاوی CO₂ کمتر) تمایل دارد pH کمی بالاتری داشته باشد، اما در انکوباتور (با CO₂ بالا) pH کمی کاهش می‌یابد. همچنین گفته شده است که بالا بودن سطح لاکتات (که قبلاً اشاره شد) می‌تواند باعث کاهش pH (اسیدی شدن) سرم شود. معمولاً روش اندازه‌گیری استاندارد pH با استفاده از pH متر الکترونیکی کالیبره شده انجام می‌شود.

۶-۱-۱۰- متابولیت‌های مضر:

متابولیت‌های مضر در سرم گاوی جنین (FBS) موادی هستند که در اثر فرآیندهای متابولیک طبیعی بدن جنین، یا به دلیل فساد و آسیب بافتی (مانند همولیز) تولید می‌شوند. وجود سطح بالای این مواد نشان‌دهنده کیفیت پایین سرم، استرس جنین یا عدم رعایت اصول بهداشتی در جمع‌آوری است. این متابولیت‌ها می‌توانند سمی (Toxic) بوده و رشد و تکثیر سلول‌ها را مختل کنند. مهم‌ترین این متابولیت‌ها عبارتند از لاکتات (Lactate)، آمونیاک (Ammonia)، لاکتات دهیدروژناز (LDH - Lactate)، اوره (Urea)، اسیدهای چرب آزاد (Free Fatty Acids - FFAs)، پیرووات (Pyruvate)، آلدولاز (Aldolase) و سایر آنزیم‌های سلولی. مقادیر بالای این مواد نشان‌دهنده کیفیت پایین سرم یا آسیب دیدن گلبول‌های قرمز (همولیز) در هنگام جمع‌آوری است. در تولید سرم گرید بالینی (Clinical-Grade)، اندازه‌گیری این متابولیت‌ها (به ویژه لاکتات و LDH) ضروری است زیرا مبین سلامت جنینی است که سرم از آن اخذ شده است و اطمینان از اینکه سرم از جنین سالم و زنده گرفته شده است. ارزیابی این موارد منجر به پیشگیری از سمیت سرم خواهد شد و مانع از وارد کردن مواد سمی به محیط کشت سلول‌های انسانی خواهد شد. همچنین سطح بالای این متابولیت‌ها نشان‌دهنده عدم مهارت در جمع‌آوری خون یا تأخیر در پردازش آن است. بنابراین، یک سرم با کیفیت باید دارای حداقل سطح از این متابولیت‌های مضر باشد.

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

۱-۶-۱-۱۰- لاکتات (Lactate)

لاکتات به عنوان محصول نهایی متابولیسم بی‌هوازی (گلیکولیز) است. سطح بالای لاکتات نشان‌دهنده هایپوکسی (کمبود اکسیژن) جنین یا استرس متابولیک است. همچنین می‌تواند نشان‌دهنده رشد باکتریایی در سرم باشد. لاکتات بالا می‌تواند pH محیط کشت را کاهش داده و برای سلول‌های حساس سمی باشد. محدوده مجاز آن باید کمتر از ۲۰-۴۰ میلی گرم دسی لیتر (mg/dL) باشد.

۲-۶-۱-۱۰- آمونیاک (Ammonia)

منشأ آمونیاک تجزیه پروتئین‌ها و اسیدهای آمینه (دآمیناسیون) است. آمونیاک برای سلول‌های پستانداران بسیار سمی است. می‌تواند باعث توقف رشد سلولی، تغییر در pH و اختلال در سنتز پروتئین شود. منشأ آمونیاک در سرم، معمولاً ناشی از شکستن پروتئین‌ها در اثر فساد یا نگهداری نامناسب قبل از انجماد می‌باشد.

۳-۶-۱-۱۰- لاکتات دهیدروژناز (LDH - Lactate Dehydrogenase)

منشأ لاکتات دهیدروژناز به عنوان آنزیمی است که در داخل سلول‌ها (به ویژه گلبول‌های قرمز، قلب و عضلات) یافت می‌شود. خود LDH سمی نیست، اما یک نشانگر (Marker) بسیار قدرتمند برای همولیز (پارگی گلبول‌های قرمز) است. سطح بالای LDH در سرم نشان می‌دهد که در هنگام جمع‌آوری خون، آسیب زیادی به بافت یا گلبول‌ها وارد شده و محتویات داخل سلولی (که ممکن است حاوی آنزیم‌های هضم‌کننده یا یون‌های مضر مثل پتاسیم باشد) به سرم نشت کرده است. سرم با LDH بالا کیفیت پایینی دارد.

۴-۶-۱-۱۰- اوره (Urea)

اوره به عنوان محصول نهایی متابولیسم پروتئین در کبد است و دفع از طریق کلیه می‌باشد. سطح بسیار بالای اوره می‌تواند نشان‌دهنده نارسایی کلیوی جنین یا مشکلات متابولیک باشد. اگرچه در مقایسه با آمونیاک سمیت کمتری دارد، اما سطح غیرطبیعی آن نشان‌دهنده عدم سلامت جنین گاو است.

۵-۶-۱-۱۰- اسیدهای چرب آزاد (Free Fatty Acids - FFAs)

اسیدهای چرب آزاد ناشی از لیپولیز (شکستن چربی‌ها) است که می‌تواند در اثر استرس یا نگهداری طولانی مدت در دمای اتاق رخ دهد. سطح بالای اسیدهای چرب آزاد می‌تواند با پروتئین‌های سرم و داروها متصل شده و اثرات نامطلوبی بر سلول‌ها داشته باشد. همچنین می‌تواند نشان‌دهنده اکسیداسیون لیپیدها باشد.



راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

۱۵۳

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

بسیاری از سلول‌ها برای رشد نیاز دارند که به سطح ظرف کشت بچسبند. این تست بررسی می‌کند که آیا سرم حاوی فاکتورهای لازم برای چسبندگی سلولی است یا خیر.

۳-۲-۱۰- تست کلون‌زایی (Clonogenic Efficiency):

برای سلول‌های بنیادی یا سلول‌های تک‌لایه^۱، این تست بررسی می‌کند که یک سلول منفرد چقدر قادر به تشکیل یک کلونی (مجموعه سلولی، دودمان‌های سلولی با منشأ یک سلول منفرد) است. سرم‌های باکیفیت بالای عملکردی، نرخ کلون‌زایی بالایی^۲ دارند.

۴-۲-۱۰- تست سمیت (Cytotoxicity):

اطمینان از اینکه سرم حاوی موادی نیست که باعث مرگ سلولی شود. این تست معمولاً با رنگ‌آمیزی سلول‌ها (مانند Trypan Blue) پس از کشت انجام می‌شود.

در تولید تحت GMP، کیفیت شیمیایی و عملکردی باید با هم تضمین شوند:

یکنواختی (Consistency): یکی از بزرگترین چالش‌ها در سرم، تفاوت بین دسته‌های مختلف (Batch-to-Batch variation) است. تولیدکننده GMP باید ثابت کند که دسته جدید از نظر شیمیایی و عملکردی مشابه دسته‌های قبلی است تا فرآیند تولید دارو دچار اختلال نشود.

تأییدیه (Validation): قبل از استفاده از یک سرم جدید در تولید انبوه فرآورده زیستی، باید یک مطالعه اعتبارسنجی (Validation) انجام شود تا اثبات گردد که سرم از نظر شیمیایی و عملکردی با نیازهای خاص محصول دارویی سازگار است.

۳-۱۰- کنترل کیفیت قبل از استفاده از سرم

اجرای یک برنامه دقیق کنترل کیفیت (QC) قبل از استفاده از سرم گاوی جنین (FBS)، به ویژه در تولید محصولات بالینی و گرید GMP، ضروری است. حتی اگر سرم دارای گواهی تحلیل (CoA) معتبر باشد، تست‌های درون‌سازمانی (In-house) تضمین می‌کند که محصول در حین حمل‌ونقل یا نگهداری آسیب ندیده و با خط سلولی شما سازگار است. کنترل کیفیت قبل از استفاده شامل بررسی ظاهر فیزیکی، تست استریلیته، و مهم‌تر از همه تست رشد سلولی است. این مراحل تضمین می‌کنند که سرم آسیب ندیده است و فرآیند تولید دارو یا آزمایش با شکست مواجه نخواهد شد.

¹ Monolayer adherent cells

² High Clonogenic Rate

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

۱-۳-۱- بازرسی فیزیکی (Physical Inspection)

قبل از باز کردن درب بطری، باید موارد زیر را بررسی می‌شود:

وضعیت یخ: اطمینان حاصل شود که سرم کاملاً یخ زده است. وجود نشانه‌های ذوب شدن و یخ زدن مجدد (مانند تغییر رنگ یا وجود کریستال‌های یخ غیرطبیعی) می‌تواند کیفیت را به شدت کاهش دهد.

برچسب‌ها: تطبیق شماره لات (Lot Number)، تاریخ انقضا و نام محصول با سفارش و گواهی تحلیل (COA) ضروری است.

ظرف: بررسی بطری برای وجود ترک خوردگی یا نشستی صورت گیرد.

تست پیش کشت (Pre-culture Test)

۱-۳-۲- بررسی پس از باز کردن (Post-Thaw Inspection)

پس از ذوب کردن سرم در یخچال (۲-۸ درجه سانتی‌گراد)، معمولاً موارد زیر مورد دقت قرار می‌گیرد:

رنگ: سرم FBS باکیفیت معمولاً صاف، شفاف و به رنگ کهربایی روشن (Amber) است.

هشدار: رنگ قرمز تیره یا صورتی ممکن است نشان‌دهنده همولیز باشد. رنگ تیره یا کدر ممکن است نشان‌دهنده آلودگی میکروبی باشد.

کدورت (Turbidity): سرم باید کاملاً شفاف باشد. هرگونه کدورت، تیرگی یا ذرات معلق (Floating Particles) می‌تواند نشانه رشد باکتری/قارچ یا آلودگی پروتئینی باشد.

رسوب: وجود رسوبات پروتئینی (Fibrin) طبیعی است اما باید پس از گرم شدن حل شود. وجود ذرات نامحلول نشانه مشکل در مرغوبیت سرم است.

۱-۳-۳- تست‌های میکروبیولوژی (Microbiological Testing)

اگرچه سرم استریل است، اما در محیط‌های تولید بالینی، تست مجدد توصیه می‌شود:

تست استریلیته (<71 USP): معمولاً کشت نمونه سرم در محیط‌های مایع تیوگلیکولات و سوی‌بتون به مدت ۱۴ روز برای اطمینان از عدم رشد باکتری‌ها و قارچ‌ها صورت می‌گیرد.

تست مایکوپلازما (<63 USP): استفاده از روش PCR یا کشت سلولی برای اطمینان از عدم وجود مایکوپلازما (بسیار مهم) ضروری است.

تست اندوتوکسین (<85 USP): بررسی سطح اندوتوکسین سرم (معمولاً باید کمتر از ۱۰ EU/mL باشد).

تست پیروژنیسیته (Pyrogen Testing) طبق LAL assay

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

۴-۳-۱۰- تست عملکردی (Functional Testing - Cell Growth Assay)

مهم‌ترین تست قبل از استفاده در تولید انبوه سلول این است که اثر سرم در رشد و تسریع رشد سلول‌های مورد استفاده اثبات گردد.

• تست رشد (Growth Kinetics=Growth Promotion):

سلول‌های کشت داده شده در محیط کشت حاوی سرم کشت داده می‌شود و نرخ دو برابر شدن (Doubling Time) و تراکم نهایی (Confluence) سلول‌ها با سرم قبلی (که نتایج خوبی داشته) معمولاً مقایسه می‌گردد. بررسی می‌شود که آیا سلول‌ها مورفولوژی (شکل و ظاهر) طبیعی خود را حفظ می‌کنند یا خیر.

• تست چسبندگی (Attachment Efficiency): برای سلول‌های چسبنده، بررسی می‌شود که چه درصدی از سلول‌ها پس از سانتریفیوژ و کشت مجدد به ظرف می‌چسبند.

• تعیین زنده‌مانی سلولی (viability) در محیط حاوی FBS

• تست تمایز (Differentiation Assay)

۵-۳-۱۰- تست‌های ایمنی ویروسی (برای FBS گرید بالینی)

اگر سرم برای تولید فرآورده‌های بیولوژیک سلولی استفاده می‌شود، در نظر گرفتن ملاحظات زیر ضروری به نظر می‌رسد:

• تست ویروس‌های خارجی (Adventitious Viruses): طبق ICH Q5A، تست برای ویروس‌هایی مانند BVDV، BHV-1 و پاروویروس باید انجام شود (اگر در COA تأیید نشده باشد).

۶-۳-۱۰- تست‌های شیمیایی سریع (Rapid Chemical Tests)

pH: اندازه‌گیری pH سرم ذوب شده (باید حدود ۷٫۲ تا ۷٫۶ باشد).

اسمولالیته: حدود ۲۸۰-۳۲۰ mOsm/kg باشد

۷-۳-۱۰- مدیریت ریسک (Risk Management)

قرنطینه (Quarantine): سرم‌های جدید نباید بلافاصله وارد خط تولید اصلی شوند. باید در یک منطقه قرنطینه نگهداری شوند تا نتایج تست‌های کنترل کیفیت آماده شود.

Aliquot کردن: معمولاً قبل از استفاده، سرم را در حجم‌های کوچک (مثلاً ۲۰ یا ۵۰ میلی‌لیتری) تقسیم می‌شود تا از یخ زدن و ذوب شدن مکرر کل بطری جلوگیری شود.

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

۴-۱۰- نکات بالینی و تنظیمات خاص

۱-۴-۱۰- عدم استفاده از آنتی‌بیوتیک

عدم استفاده از آنتی‌بیوتیک در سرم (Antibiotic-Free) یکی از مشخصات کلیدی و الزامات ضروری در تولید سرم‌های گاوی جنین (FBS) با گرید بالینی (Clinical-Grade) و همچنین در بسیاری از کاربردهای تحقیقاتی پیشرفته است. از دلایل علمی، ایمنی و فنی این موضوع عبارت است از ۱) جلوگیری از پنهان شدن آلودگی (Masking Contamination)، که مهم‌ترین دلیل برای عدم استفاده از آنتی‌بیوتیک است. آنتی‌بیوتیک‌ها (مانند پنی‌سیلین و استرپتومایسین) باکتری‌ها را لزوماً نمی‌کشند، بلکه رشد آن‌ها را متوقف می‌کنند (باکتریواستاتیک). خطر بالقوه استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها این است که اگر سرم حاوی آنتی‌بیوتیک باشد و آلودگی باکتریایی خفیفی در آن وجود داشته باشد، باکتری رشد نمی‌کند و در تست‌های استریلیته ($USP <71>$) شناسایی نمی‌شود (نتیجه منفی کاذب). در نتیجه، وقتی این سرم به محیط کشت سلولی اضافه می‌شود، آنتی‌بیوتیک رقیق شده و اثرش از بین می‌رود. در این شرایط، باکتری‌های پنهان شروع به تکثیر می‌کنند و می‌توانند کل کشت سلولی را نابود کنند. ۲) ایمنی بیمار (Patient Safety)، خصوصاً در تولید محصولات بیولوژیک برای انسان (مانند سلول‌درمانی)، بسیاری از افراد به آنتی‌بیوتیک‌های خاصی (به ویژه پنی‌سیلین‌ها) حساسیت دارند (حساسیت دارویی). وجود حتی مقادیر بسیار کم از آنتی‌بیوتیک در محصول نهایی دارو می‌تواند باعث واکنش‌های آلرژیک شدید، شوک آنافیلاکتیک یا حتی مرگ در بیمار شود. بنابراین، نهادهای نظارتی مانند FDA و EMA استفاده از آنتی‌بیوتیک در فرآیند تولید داروهای زیستی را به شدت محدود کرده‌اند و ترجیح می‌دهند محصول نهایی فاقد هرگونه رد آنتی‌بیوتیک باشد. ۳) جلوگیری از تداخل با تست‌های استاندارد؛ طبق استاندارد استریلیته ($USP <71>$)، وجود آنتی‌بیوتیک در نمونه می‌تواند با رشد باکتری‌های شاخص در محیط کشت تداخل داشته باشد و نتایج تست را نامعتبر کند. برای اطمینان از صحت تست، نمونه نباید حاوی بازدارنده‌های میکروبی باشد. ۴) اثرات سمی بر سلول‌ها (Cytotoxicity)؛ برخی آنتی‌بیوتیک‌ها در غلظت‌های خاص یا در طول زمان می‌توانند برای سلول‌های پستانداران سمی باشند. آنتی‌بیوتیک‌ها می‌توانند متابولیسم سلولی را تغییر داده و بیان ژن‌ها را مختل کنند. در تحقیقاتی که نیاز به دقت بالا در رفتار سلول‌ها وجود دارد، آنتی‌بیوتیک‌ها می‌توانند نتایج را تحریف کنند. ۵) جلوگیری از ایجاد مقاومت دارویی (Antimicrobial Resistance - AMR)؛ استفاده بی‌رویه و مداوم از آنتی‌بیوتیک‌ها در محیط‌های کشت، فشار انتخابی ایجاد می‌کند که منجر به ظهور باکتری‌های مقاوم به دارو می‌شود. حذف آنتی‌بیوتیک از سرم و محیط کشت، یک اقدام مسئولانه در جهت کنترل مقاومت میکروبی در سطح جهانی است. ۶) تفاوت با سرم‌های تحقیقاتی (Research Grade)؛ سرم‌های تحقیقاتی اغلب حاوی آنتی‌بیوتیک هستند تا دانشجویان یا محققانی که تکنیک‌های آسپتیک (استریل) را به خوبی رعایت نمی‌کنند، کشت‌هایشان را از بین نبرند؛ ولی سرم‌های گرید بالینی (Clinical/GMP Grade)، همیشه بدون آنتی‌بیوتیک هستند. این نشان‌دهنده این است که فرآیند تولید، جمع‌آوری و فیلتراسیون آنقدر استریل و کنترل شده بوده که نیازی به استفاده از مواد شیمیایی برای جلوگیری از رشد باکتری‌ها نمی‌باشد. عدم وجود آنتی‌بیوتیک در سرم نشان‌دهنده کیفیت بالاتر، ایمنی بیشتر برای بیمار و اعتبار

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

علمی بیشتر نتایج تست‌های استرلیته است. در تولید فرآورده‌های بیولوژیک، استفاده از سرم بدون آنتی‌بیوتیک الزامی است تا از خطرات آلرژی و پنهان ماندن آلودگی‌های میکروبی جلوگیری شود.

۲-۴-۱۰- در صورت استفاده در محصولات بالینی عدم آلودگی Cross-Species حائز اهمیت است

"عدم آلودگی Cross-Species" (عدم آلودگی بین‌گونه‌ای) در سرم گاوی جنین (FBS) به معنای اطمینان از این است که سرم فاقد هرگونه عامل عفونی (ویروس، باکتری، پرین) است که بتواند از گاو (گونه منشأ) به انسان (گونه گیرنده در محصولات بالینی) منتقل شود. در تولید محصولات زیستی و سلول‌درمانی، این یکی از حیاتی‌ترین جنبه‌های ایمنی بیمار است. "عدم آلودگی Cross-Species" به معنای تضمین این است که سرم گاوی فاقد عوامل بیماری‌زایی است که می‌توانند از گاو به انسان منتقل شوند. این امر با انتخاب کشور ایمن، تست‌های جامع ویروسی، پرتودهی گاما و نانوفیلتراسیون به دست می‌آید و یکی از الزامات اصلی سرم‌های گرید بالینی است.

۳-۴-۱۰- خطر انتقال بیماری‌های مشترک (Zoonotic Diseases)

گاوها می‌توانند ناقل پاتوژن‌هایی باشند که برای انسان خطرناک هستند. هدف از کنترل Cross-Species، جلوگیری از انتقال این عوامل است:

- **ویروس‌ها:** مانند ویروس هپاتیت E (Hepatitis E)، ویروس دیستمپر (Canine Distemper Virus) - اگرچه سگ‌ها را هدف قرار می‌دهد اما نگرانی‌های بین‌گونه‌ای دارد) و به ویژه پرین‌ها.
- **پرین‌ها (Prions):** عامل بیماری‌های دژنراسیون عصبی مانند BSE (جنون گاوی) که می‌تواند باعث بیماری کورتزفلدت-جاکوب (vCJD) در انسان شود. پرین‌ها بسیار مقاوم هستند و با روش‌های معمولی ویروس‌کشی از بین نمی‌روند.

۴-۴-۱۰- استراتژی‌های تضمین عدم آلودگی Cross-Species

برای اطمینان از ایمنی سرم در محصولات بالینی، چندین رویکرد قابل اعمال است:

۱-۴-۴-۱۰- انتخاب منبع (Herd Selection & Geographical Origin)

کشورهای عاری از BSE: سرم باید از کشورهایی تأمین شود که مورد تأیید سازمان بهداشت جهانی دام (WOAH) هستند و سابقه‌ای از بیماری جنون گاوی (BSE) ندارند.

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

وضعیت گله: گله‌های دامی باید قرنطینه شده باشند و تحت نظارت دامپزشکی دقیق باشند تا از تماس با حیوانات وحشی یا سایر گله‌های آلوده جلوگیری شود.

۲-۴-۱۰- تست‌های ویروسی گسترده (Viral Safety Testing - ICH Q5A)

طبق راهنمای ICH Q5A، سرم باید برای طیف وسیعی از ویروس‌ها تست شود تا اطمینان حاصل گردد هیچ ویروس بالقوه خطرناکی در سرم وجود ندارد:

ویروس‌های گاوی: BVDV, BHV-1, BPIV-3.

ویروس‌های غیر گاوی: تست برای ویروس‌هایی که ممکن است از طریق محیط آلوده شده باشند (مانند پاروویروس موش که در آزمایشگاه‌ها شایع است).

۳-۴-۱۰- غیرفعال‌سازی و حذف (Inactivation & Clearance)

حتی با تست منفی، فرآورده‌های تولید باید توانایی حذف عوامل عفونی را داشته باشند:

- **پرتودهی گاما (Gamma Irradiation):** استفاده از دوزهای مشخص (مثلاً ۲۵-۵۰ kGy) برای از بین بردن توانایی تکثیر ویروس‌ها و کاهش خطر پریون‌ها.
- **نانوفیلتراسیون (Nanofiltration):** استفاده از فیلترهای بسیار ریز (۲۰ نانومتر) که می‌توانند ویروس‌ها را فیزیکی مسدود کنند.

۴-۴-۱۰- تست‌های اختصاصی پریون (Prion Reduction)

برای محصولات بالینی، اغلب تولیدکنندگان باید اثبات کنند که فرآیند تولید آنها (مانند کروماتوگرافی یا فیلتراسیون) توانایی کاهش بار پریونی را دارد.

۵-۱۰- سایر ملاحظات:

اهمیت در محصولات سلولی و ژن درمانی

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

همانگونه که قبلاً اشاره شد، در فرآورده‌های برپایه سلول و ژن، عموماً به دلیل مزیت نسبی سرم گاوی در رشد و تکثیر سلولی، سلول‌های انسانی، مستقیماً در تماس با سرم گاوی رشد و تکثیر دارند. ولی با این وجود مخاطراتی وجود دارد: **آلودگی پنهان:** اگر ویروس یا پریونی در سرم وجود داشته باشد، ممکن است وارد سلول‌های انسانی شود (حتی اگر تکثیر نکنند). **خطر برای بیمار:** هنگامی که سلول‌های بیمار تزریق می‌شوند، این عوامل می‌توانند وارد بدن انسان شوند.

با اینحال، سازمان‌های نظارتی (FDA, EMA) تأکید دارند که مواد اولیه با منشأ حیوانی باید "کم‌خطر" (Low Risk) در نظر گرفته شوند و مستندات کاملی در مورد عدم آلودگی Cross-Species برای آنها ارائه شود.

۴. تفاوت با سرم‌های تحقیقاتی

سرم‌های معمولی تحقیقاتی ممکن است از کشورهایی با وضعیت BSE نامشخص تهیه شوند یا تست‌های ویروسی کامل نداشته باشند. استفاده از چنین سرم‌هایی در تولید محصولات بالینی ممنوع است، زیرا خطر انتقال بیماری به انسان (Cross-Species Infection) وجود دارد.

جلوگیری از آلودگی با مواد انسانی در سرم

جلوگیری از آلودگی با مواد انسانی در سرم جنینی گاو (FBS) یکی از اصول بهداشتی حیاتی در تولید محصولات زیستی است. این امر به دو دلیل اصلی انجام می‌شود: (۱) جلوگیری از انتقال بیماری‌های انسانی به گله‌های دامی (معکوس)، و (۲) جلوگیری از آلودگی محصولات دارویی با مواد بیولوژیک انسانی. جلوگیری از آلودگی با مواد انسانی در سرم شامل رعایت اصول آسپتیک شدید توسط پرسنل، تست‌های PCR برای DNA انسانی، و ایزولاسیون کامل خطوط تولید است. این کار تضمین می‌کند که سرم فقط حاوی مواد بیولوژیک گاوی است و هیچ عامل عفونی یا ماده ژنتیکی انسانی در آن وجود ندارد. همواره روش‌ها و الزاماتی برای جلوگیری از این نوع آلودگی ارائه شده است که عبارتند از:

۱. کنترل فرآیند جمع‌آوری (Collection Process Control)

خطر اصلی آلودگی با مواد انسانی در لحظه سوزن‌زنی به منظور اخذ خون و برداشت خون از جنین وجود دارد.

۲. تست‌های میکروبیولوژیک برای پاتوژن‌های انسانی

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

اگرچه سرم از گاو گرفته می‌شود، اما باید تست شود تا اطمینان حاصل گردد که حاوی پاتوژن‌هایی نیست که توسط انسان منتقل شده‌اند:

- **ویروس‌های انسانی:** طبق استانداردهای ایمنی، سرم نباید حاوی ویروس‌هایی مانند HIV، هپاتیت B (HBV) یا هپاتیت C (HCV) باشد. اگرچه این ویروس‌ها در گاو تکثیر نمی‌شوند، اما حضور DNA/RNA آن‌ها نشان‌دهنده آلودگی محیطی یا خطای انسانی در فرآیند تولید است.
- **مایکوپلاسمای انسانی:** تست مایکوپلازما باید شامل سوبه‌هایی باشد که پتانسیل آلودگی انسانی دارند.

۳. جلوگیری از آلودگی با سلول‌های انسانی (Cell Line Contamination)

در محیط‌های آزمایشگاهی که همزمان با سلول‌های انسانی و سرم گاوی کار می‌شود، خطر آلودگی متقاطع (Cross-Contamination) وجود دارد:

تولید در سایت‌های اختصاصی: تولیدکنندگان سرم گرید بالینی باید در کارخانه‌هایی فعالیت کنند که فقط با مواد دامی سروکار دارند و هیچ خط سلولی انسانی در آن‌ها کشت نمی‌شود.

تست DNA: استفاده از تست‌های PCR بسیار حساس برای اطمینان از اینکه هیچ DNA انسانی در سرم وجود ندارد. وجود DNA انسانی می‌تواند نشان‌دهنده آلودگی محیطی یا خطا در بسته‌بندی (Exogenous DNA) باشد.

۴. اهمیت در ایمنی زیستی (Biosafety)

- **انتقال بیماری به دام (Reverse Zoonosis):** اگر سرم با ویروس‌های انسانی آلوده شود و به عنوان مکمل غذایی به دام‌های دیگر داده شود (با در کشت سلول‌های دامی استفاده شود)، می‌تواند باعث ایجاد بیماری‌های جدید در حیوانات شود.
- **خلوص محصول:** برای داروهای زیستی، وجود هرگونه ماده بیولوژیک انسانی (مانند پروتئین‌های پلاسما یا DNA) در سرم گاوی یک ناخالصی (Impurity) قلمداد شده و باید صفر باشد.

۵. الزامات GMP

در اصول تولید خوب فرآورده‌های بیولوژیک (GMP):

- **جداسازی:** مناطق تولید مواد اولیه حیوانی باید از مناطق تولید محصولات انسانی کاملاً جدا باشند.
- **تست‌های ویروسی گسترده:** طبق ICH Q5A، تست‌ها باید طیف وسیعی از ویروس‌ها را پوشش دهند تا هرگونه آلودگی احتمالی (چه منشأ حیوانی و چه انسانی) شناسایی شود.

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

گواهی منبع و کیفیت (COA)

گواهی تحلیل (Certificate of Analysis - COA) سندی رسمی و قانونی است که توسط تولیدکننده سرم (مانند شرکت‌های بزرگ تولیدکننده FBS) صادر می‌شود. این سند تضمین می‌کند که آن دسته (Lot) خاص از سرم، تمام تست‌های کنترل کیفی را با موفقیت پشت سر گذاشته و مشخصات فنی آن با استانداردهای اعلام شده مطابقت دارد.

در تولید محصولات با استفاده بالینی و فرآورده‌های بیولوژیک، COA نقش "شناسنامه" سرم را دارد و بدون آن، استفاده از سرم در فرآیند GMP غیرممکن است. بنابراین، COA سندی است که هویت، خلوص، قدرت و ایمنی سرم را تأیید می‌کند. هنگام خرید سرم گرید بالینی، همیشه باید بررسی کنید که CoA شامل تمام تست‌های ویروسی، میکروبی و شیمیایی مورد نیاز شما باشد و امضای معتبر داشته باشد. بخش‌های اصلی و ضروری یک COA معتبر برای سرم گاوی جنین (FBS)، عبارتند از:

۱. اطلاعات عمومی و شناسایی محصول (General Information)

- نام محصول: (مثلاً Fetal Bovine Serum, Heat Inactivated).
- شماره لات (Lot Number): مهم‌ترین بخش؛ شماره‌ای که برای ردیابی سرم در تمام مراحل تولید، حمل‌ونقل و استفاده به کار می‌رود.
- تاریخ تولید و انقضا: تاریخ‌هایی که سرم باید در آن‌ها استفاده شود.
- حجم و نوع بسته‌بندی: (مثلاً ۵۰۰ میلی‌لیتر، بطری شیشه‌ای مثلاً از جنس پیرکس).
- منشأ (Origin): کشور مبدا گاوها (مثلاً استرالیا، نیوزیلند، آمریکا، اوروگوئه) که نشان‌دهنده وضعیت BSE است.

۲. مشخصات کیفی (Specifications & Test Results)

این بخش، قسمت مهمی از COA است و نتایج تست‌های انجام شده را نشان می‌دهد. مهم‌ترین پارامترها عبارتند از:

الف) ایمنی میکروبی و ویروسی (Microbial & Viral Safety)

- تست استریلیته (Sterility): نتیجه منفی بودن برای باکتری‌ها و قارچ‌ها ($USP <71>$).
- مایکوپلازما (Mycoplasma): نتیجه منفی بودن (طبق $USP <63>$ ، معمولاً با روش PCR).

سازمان غذا و دارو

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

- ویروس‌های خارجی (Adventitious Viruses): نتایج تست برای ویروس‌های گاوی مانند BVDV, BHV-1 (IBR), BPV و پاروویروس. باید "Not Detected" یا "Negative" باشد.
- اندوتوکسین (Endotoxin): مقدار اندازه‌گیری شده (معمولاً کمتر از ۱۰ EU/mL).

ب) کیفیت شیمیایی (Chemical Quality)

- پروتئین کل (Total Protein): مقدار (مثلاً ۴,۲ g/dL).
- آلبومین و گلوبولین: مقادیر و نسبت گلوبولین (G) / آلبومین (A)
- الکترولیت‌ها: غلظت سدیم، پتاسیم، کلسیم، منیزیم.
- گلوکز و لاکتات: سطوح گزارش شده.
- pH و اسمولالیته: مقادیر ثبت شده.
- هموگلوبین (Hemoglobin): برای اطمینان از عدم همولیز (باید بسیار پایین باشد).

ج) کیفیت عملکردی (Functional Quality)

- تست رشد سلولی (Cell Growth Assay): اغلب به صورت کیفی گزارش می‌شود (مثلاً "Pass" یا "Satisfactory") و نشان می‌دهد که سرم توانسته است رشد سلول‌های مرجع را تأمین کند.

۳. گواهی منشأ (Origin Certification)

- در CoA های گرید بالینی، بخشی وجود دارد که به منشأ سرم می‌پردازد:
- وضعیت BSE: تأیید می‌کند که گاوها از کشورهایی با ریسک پایین یا ناچیز BSE آمده‌اند.
- نوع جمع‌آوری: تأیید می‌کند که خون به روش بسته‌دقیق (Closed System) جمع‌آوری شده تا از آلودگی محیطی جلوگیری شود.

۴. روش‌های تست (Test Methods)

- یک COA معتبر باید اشاره کند که تست‌ها طبق کدام استانداردهای بین‌المللی انجام شده‌اند:
- (فارماکوپه ایالات متحده) USP
- (فارماکوپه اروپایی) EP



سازمان غذا و دارو

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

- JP (فارماکوپه ژاپن)
- (قوانین فدرال آمریکا - برای محصولات دامی) 9 CFR

۵. امضا و تأییدیه (Authorization)

COA باید توسط مدیر کنترل کیفیت (QA Manager) یا مسئول فنی شرکت تولیدکننده امضا و مهر شده باشد. همچنین تاریخ صدور گواهی باید درج شده باشد.

اهمیت COA در محصولات بالینی:

- پذیرش نظارتی: سازمان‌های غذا و دارو (مانند FDA یا سازمان غذا و داروی ایران) هنگام بازرسی از تولیدکننده دارو، COA سرم‌های استفاده شده را بررسی می‌کنند تا اطمینان حاصل کنند مواد اولیه ایمن بوده‌اند.
- ردیابی (Traceability): اگر در آینده مشکلی در کیفیت فرآورده بیولوژیک ادعایی پیش بیاید، با استفاده از شماره لات موجود در COA می‌توان منشأ مشکل را پیدا کرد.
- تضمین کیفیت: COA تضمین می‌کند که آنچه شما دریافت کرده‌اید دقیقاً همان چیزی است که سفارش داده‌اید و از نظر کیفی با استانداردهای مطابقت دارد.

الزامات سرم برای ثبت در پرونده جامع دارویی CTD

در پرونده (CTD (Common Technical Document) که برای ثبت داروهای زیستی (بیولوژیک) و شیمیایی به سازمان‌های نظارتی (مانند FDA یا EMA) ارائه می‌شود، اطلاعات مربوط به سرم (به ویژه سرم گاوی جنین یا FBS) عمدتاً در بخش ماژول ۳ (Quality Module 3 -) و به طور خاص در زیربخش 3.2.A.2 (مواد اولیه و مواد شروع‌کننده) مستند می‌شود. از آنجا که سرم یک ماده اولیه حیوانی با خطر بالقوه انتقال بیماری است، الزامات آن بسیار سخت‌گیرانه‌تر از مواد شیمیایی معمولی است. الزامات دقیق برای درج سرم در پرونده CTD به شرح زیر است:

۱. اطلاعات عمومی و توصیف (3.2.A.2.1)

در این بخش باید هویت کامل سرم مشخص شود:

- نام و توصیف: نام دقیق محصول (مثلاً Fetal Bovine Serum, Heat Inactivated, U.S. Origin).
- منشأ (Origin): کشور و منطقه جغرافیایی که گاوها در آن پرورش یافته‌اند. (بسیار مهم برای ارزیابی خطر BSE).

سازمان غذا و دارو

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

- تأمین‌کننده: نام و آدرس تولیدکننده و شماره لات (Lot Number) مورد استفاده.
- نقش در فرآیند: توضیح اینکه سرم در کدام مرحله از تولید (مثلاً کشت سلولی، انباشت سلول یا تولید ویروس) استفاده می‌شود.

۲. کنترل کیفیت و مشخصات (3.2.A.2.2)

در این بخش می‌بایست مشخصات (Specifications) سرم را ارائه شود و نشان داده شود که هر دسته (Batch) با این مشخصات مطابقت دارد. این شامل موارد زیر است:

- ایمنی ویروسی (Viral Safety): (بسیار حیاتی)
- لیست تمام ویروس‌هایی که برای آن‌ها تست شده است (مانند BVDV, BHV-1, BPV, PI3).
- روش تست (مثلاً طبق ICH Q5A یا CFR ۹).
- نتیجه تست (Pass/Fail).
- روش‌های حذف یا غیرفعال‌سازی ویروس (مانند گاما-ایرادیشن یا نانوفیلتراسیون) که روی سرم انجام شده است.
- تست‌های میکروبیولوژیک:
- تست استریلیته ($USP <71>$): قبلاً توضیح داده شده است.
- تست مایکوپلازما ($USP <63>$): قبلاً توضیح داده شده است.
- مشخصات فیزیکوشیمیایی:
- محدوده‌های مجاز برای pH، اسمولالیت، پروتئین کل، اندوتوکسین ($USP <85>$) و هموگلوبین: قبلاً به تفصیل توضیح داده شده است.

• عملکرد بیولوژیک:

شواهدی مبنی بر اینکه سرم از نظر عملکردی (Cell Growth Promotion) مناسب است، ارائه شود.

۳. ارزیابی خطر و ایمنی (Risk Assessment)

در بخش توضیحات عمومی کیفیت (A.۳.۲) یا بخش ایمنی ویروسی، باید یک ارزیابی خطر ارائه شود:

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

خطر TSE/BSE: لازم است توضیح داده شود که سرم از کشورهایی با وضعیت بهداشتی مناسب (Negligible BSE Risk) تهیه شده و هیچ تماسی با مواد محدود شده (SRM)^۱ نداشته است.

خطر Cross-Species: توضیحی در مورد اینکه چگونه از انتقال عوامل بیماری‌زا از گاو به انسان جلوگیری شده است.

۴. مستندات پشتیبان (Supporting Documentation) (3.2.A.2.4)

می‌بایست نسخه‌ای از گواهی تحلیل (COA) تولیدکننده در پرونده ضمیمه شود. COA باید شامل موارد زیر باشد:

- تأییدیه رعایت اصول GMP در تولید سرم.
- امضای مسئول کنترل کیفیت.
- تاریخ تولید و انقضا.

۵. تطابق با ICH Q5A

در پرونده CTD، به ویژه برای محصولات بیولوژیک، باید صراحتاً اشاره شود که انتخاب و کنترل سرم طبق راهنمای ICH Q5A (Viral Safety Evaluation of Biotechnology Products) انجام شده است. این نشان می‌دهد که تمام خطرات ویروسی احتمالی شناسایی و مدیریت شده است.

اگر سرم در محصول نهایی حضور ندارد (مثلاً سلول‌ها شسته شده‌اند)، باید در پرونده توضیح دهید که چگونه سرم و آلاینده‌های احتمالی آن در مراحل نهایی حذف شده‌اند (Viral Clearance/Removal).

مستندسازی کامل

مستندسازی کامل (Full Documentation) برای سرم گاوی جنین (FBS)، به ویژه در تولید محصولات گرید بالینی (Clinical-Grade) و داروهای زیستی، فرآیندی است که تمام مراحل چرخه حیات سرم را از گله دامی تا رسیدن به آزمایشگاه پوشش می‌دهد. این مستندات برای اثبات رعایت اصول GMP، ردیابی (Traceability) و ایمنی بیمار ضروری هستند. مستندسازی کامل سرم شامل مجموعه‌ای از اسناد است که از گواهی منشأ و COA شروع شده، شامل گزارش‌های دما و حمل‌ونقل می‌شود و با گزارش‌های تست‌های

^۱ Specified Risk Materials (SRM)

* مواد محدود شده (SRM) که مخفف عبارت Specified Risk Materials است، به بافت‌ها و اندام‌های حیوانات گفته می‌شود که در بیماری‌های دامی مانند BSE (جنون

گاوی) بیشترین میزان عامل عفونی (پریون) را تجمع می‌دهند. در صنعت داروسازی و تولید سرم گاوی جنین (FBS)، مفهوم SRM حیاتی است زیرا استفاده از حیوانات یا فرآورده‌هایی که با این مواد در تماس بوده‌اند، می‌تواند خطر انتقال بیماری‌های تخریب‌کننده عصبی به انسان (مانند vCJD) را به شدت افزایش دهد.

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

تأییدی داخلی و ثبت استفاده در تولید پایان می‌یابد. این زنجیره اسناد تضمین می‌کند که سرم از مزرعه تا سرنگ بیمار، ایمن و قابل ردیابی باقی مانده است.

ساختار کامل و لایه‌های مستندسازی مورد نیاز آورده شده است:

۱. مستندات تولیدکننده (Manufacturer Documentation)

این اسناد توسط شرکت تولیدکننده سرم تهیه می‌شوند و باید در اختیار شما قرار گیرند:

- **گواهی تحلیل (CoA - Certificate of Analysis):**
- مهم‌ترین سند که نتایج تست‌های کیفی (استرلیته، ویروس‌ها، شیمیایی) را برای آن دسته (Lot) خاص نشان می‌دهد.
- باید شامل امضای مسئول کنترل کیفیت و تاریخ باشد.
- **گواهی منشأ (Certificate of Origin - COO):**
- سندی که کشور مبدأ، منطقه جغرافیایی و وضعیت بهداشتی گله (BSE Status) را تأیید می‌کند.
- **گواهی رعایت GMP:**
- تأییدیه که مستند می‌کند فرآیند تولید سرم طبق اصول تولید خوب دارو (GMP) انجام شده است.
- **گزارش‌های تولید (Batch Manufacturing Records - BMR):**
- جزئیات دقیق فرآیند تولید شامل زمان‌های انکوباسیون، دماهای فیلتراسیون، و دوز پرتودهی گاما را ارائه می‌دهد.
- **گزارش‌های تست‌های ویروسی (Viral Safety Reports):**
- گزارش‌های تفصیلی تست‌های BVDV, BHV-1 و سایر ویروس‌ها طبق ICH Q5A.

۲. مستندات حمل‌ونقل و نگهداری (Shipping & Storage)

برای اثبات اینکه سرم در مسیر تخریب نشده باشد:

- **گزارش دما (Temperature Log):**
- نمودار ثبت دما در حین حمل‌ونقل (Dry Ice) که نشان دهد دما همیشه زیر منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد بوده است.
- **گزارش دریافت (Receipt Log):**
- سندی که در هنگام ورود به انبار شما تکمیل می‌شود و وضعیت ظروف (سالم/شکسته)، دمای ورودی، و شماره لات مشخص کرده است.
- **گزارش‌های مانیتورینگ انبار (Storage Monitoring):**
- ثبت دمای روزانه یا مداوم فریزرهای نگهداری سرم برای اثبات شرایط نگهداری مناسب.

سازمان غذا و دارو

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

۳. مستندات کنترل کیفیت درون‌سازمانی (In-House QC Records)

قبل از استفاده از سرم در تولید، می‌بایست تست‌هایی انجام شود و مستند گردد:

- پروتکل‌های تست (Test Protocols):
- روش‌های عملیاتی استاندارد (SOP) برای تست‌هایی که روی سرم انجام می‌شود می‌بایست مستند گردد (مثلاً تست استریلیته داخلی).
- گزارش‌های آزمایشگاهی (Lab Reports):
- نتایج تست‌های تأییدی (مانند تست رشد سلولی یا تست میکوپلازما PCR) که در آزمایشگاه انجام شده است.
- گزارش ارزیابی ریسک (Risk Assessment):
- سندی که ارزیابی می‌کند آیا این سرم برای فرآیند خاص شما مناسب است یا خیر.

۴. مستندات استفاده در تولید (Usage Documentation)

در هنگام استفاده از سرم در خط تولید فرآورده:

- دفترچه تولید (Batch Manufacturing Record - BMR دارو):
- ثبت شماره لات سرم، تاریخ باز کردن، حجم استفاده شده، و نام اپراتور.
- گزارش‌های Aliquot (تقسیم‌بندی):
- اگر سرم را در حجم‌های کوچک تقسیم کرده‌اید، باید تاریخ و شرایط تقسیم‌بندی ثبت شود.
- گزارش‌های بازرسی (Inspection Logs):
- گزارش بازرسی بصری سرم قبل از استفاده (رنگ، کدورت، رسوب).

۵. مستندات برای پرونده CTD (Regulatory Filing)

برای ثبت فرآورده، خلاصه‌ای از این مستندات در بخش 3.2.A.2 پرونده CTD قرار می‌گیرد:

- توضیح مواد اولیه (Raw Material Description): شامل منشأ، مشخصات کیفی، و روش‌های کنترل.
- خلاصه ایمنی و ویروسی (Viral Safety Summary): شواهدی مبنی بر عدم وجود SRM و تست‌های ویروسی انجام شده.
- لیست تأمین‌کنندگان تأیید شده (Approved Supplier List).

سازمان غذا و دارو

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

۶. اصل "ALCOA" در مستندسازی

تمام این مستندات باید بر اساس اصول ALCOA باشند تا در بازرسی‌های قانونی معتبر باشند:

- **A - Attributable** (قابل انتساب) مشخص باشد چه کسی کار را انجام داده و در چه زمانی انجام داده است
- **L – Legible** نوشته‌ها می‌بایست خوانا و ماندگار باشند (خوانا)
- **C – Contemporaneous** ثبت‌ها در همان لحظه انجام کار انجام شود، نه بعداً از حفظ (همزمان)
- **O - Original** اسناد اولیه باشند، نه کپی (اصلی)
- **A - Accurate** اطلاعات صحیح و بدون خطا باشند (دقیق)

تست‌های داخلی قبل از استفاده از سرم

تست‌های داخلی قبل از استفاده (In-House Testing) مجموعه‌ای از آزمایش‌هایی است که توسط آزمایشگاه کنترل کیفیت (QC) تولیدکننده فرآورده یا شرکت بیوتکنولوژی روی سرم گاوی جنین (FBS) انجام می‌شود. تست‌های داخلی قبل از استفاده، لایه امنیتی نهایی هستند. این تست‌ها شامل بررسی ظاهری، تست استریلیته، تست مایکوپلاسما و مهم‌تر از همه تست رشد سلولی است تا اطمینان حاصل شود که سرم برای سلول‌های شما بی‌خطر و مؤثر خواهد بود (قبلاً توضیح داده شده است).

حتی اگر سرم دارای گواهی آنالیز (COA) معتبر از تولیدکننده باشد، انجام این تست‌ها ضروری است. این کار تضمین می‌کند که:

۱. سرم در حین حمل‌ونقل آسیب ندیده است.

۲. سرم با خط سلولی خاص مورد استفاده سازگار است.

۳. نتایج COA تأیید می‌شود.

قبول (Accept): اگر تمام تست‌ها در محدوده استاندارد بود، سرم به "وضعیت آزاد شده برای تولید" (Released for Manufacturing) می‌رسد.

رد (Reject): اگر تست استریلیته مثبت شد یا رشد سلولی ضعیف بود، کل دسته سرم باید کنار گذاشته شود و به تأمین‌کننده بازگردانده شود.

ه) نکات ثبتی و قانونی

در زمینه تولید و ثبت داروهای زیستی، سرم به عنوان یک ماده اولیه حیوانی با ریسک بالا، دارای نکات ثبتی و قانونی بسیار حساسی است. رعایت این موارد برای تأیید پرونده دارو توسط سازمان‌های نظارتی (مانند FDA، EMA یا سازمان غذا و داروی ایران) ضروری است.

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

است. از نظر قانونی، سرم یک ماده حساس است. نکات کلیدی شامل انتخاب کشور ایمن (بدون BSE)، تأیید ایمنی ویروسی (طبق ICH Q5A)، تأیید GMP تولیدکننده و قابلیت ردیابی کامل از گله تا محصول نهایی است. عدم رعایت این موارد می‌تواند منجر به رد شدن پرونده دارو یا توقف تولید شود.

بر طبق قوانین FDA (US)، استفاده از سرم گاوی جنین (FBS) در محصولات زیستی باید به طور دقیق و شفاف در هر دو سند بر طبق قوانین CTM (Clinical Trial Master File) و IMPD (Investigational Medicinal Product Dossier) ذکر شود. این دو سند برای شروع کارآزمایی‌های بالینی (Clinical Trials) ضروری هستند و سازمان‌های نظارتی (مانند EMA در اروپا یا سازمان غذا و دارو در ایران) با دقت بخش مربوط به مواد اولیه حیوانی را بررسی می‌کنند. در IMPD، می‌بایست مشخصات فنی و ایمنی FBS را برای تأییدیه اولیه ارائه دهید. در CTM، باید مستندات کامل، قراردادهای و سوابق عملیاتی را برای بازرسی‌های آینده نگهداری شود. عدم ذکر دقیق این اطلاعات می‌تواند منجر به تاخیر در صدور مجوز کارآزمایی بالینی شود. هنگام نوشتن بخش مربوط به FBS در IMPD و CTM، روی مواردی از قبیل وضعیت BSE، عدم تماس با SRM، غیرفعال‌سازی ویروسی، تست‌های ویروس، قابلیت ردیابی سرم، مورد دقت قرار می‌گیرد.

۱. IMPD (Investigational Medicinal Product Dossier)

IMPD سندی است که اطلاعات فنی و کیفی داروی آزمایشی را برای دریافت مجوز کارآزمایی بالینی ارائه می‌دهد. در واقع، IMPD که مخفف Investigational Medicinal Product Dossier است، سندی جامع و فنی است که حاوی تمام اطلاعات مربوط به کیفیت، ایمنی و تولید داروی آزمایشی (Investigational Medicinal Product - IMP) است. این سند برای درخواست مجوز انجام کارآزمایی بالینی (Clinical Trial Authorization - CTA) در کشورهای عضو اتحادیه اروپا و بسیاری از سیستم‌های نظارتی دیگر (از جمله ایران که اغلب از ساختار مشابه استفاده می‌کند) ارائه می‌شود. هدف IMPD، اثبات اینکه داروی آزمایشی با کیفیت بالا تولید شده است (GMP)، اثبات ایمنی دارو برای مصرف در انسان (به ویژه در فاز اول) و ارائه اطلاعات کافی برای تولید، کنترل و بسته‌بندی فرآورده، می‌باشد. IMPD سندی است که برای شروع کارآزمایی بالینی به سازمان غذا و دارو ارائه می‌شود. این سند شامل تمام جزئیات فنی تولید، کیفیت و کنترل دارو است و باید به دقت تکمیل شود تا مجوز تست فرآورده روی انسان صادر گردد.

بخش مربوط به FBS عمدتاً در بخش ۳ (Quality) قرار دارد:

3.2.S.2.2 (مواد اولیه و مواد شروع‌کننده - Starting Materials):

در این بخش می‌بایست FBS به عنوان یک ماده اولیه با منشأ حیوانی معرفی شود. در مورد منشأ (Origin):، موارد کشور مبدا، وضعیت BSE و نوع جمع‌آوری (بسته یا باز) می‌بایست به طور دقیق مورد دقت قرار گیرد. همچنین در این بخش، مشخصات (Specifications) و لیست تست‌های انجام شده (استریلیته، ویروس‌ها، میکوپلاسما) و محدوده‌های مجاز مورد بررسی قرار گرفته و مستند می‌گردد.

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

3.2.P.3.2 (مواد و حلال‌های واکنش - Materials & Solvents):

اگر FBS در فرآیند تولید (مانند کشت سلولی) استفاده می‌شود، باید ذکر شود.

3.2.P.5.1 (کنترل مواد اولیه - Control of Starting Materials):

ارائه گواهی تحلیل (CoA) و توضیح روش‌های غیرفعال‌سازی ویروسی (پرتودهی گاما) ضروری است.

۲. CTM (Clinical Trial Master File)

CTM یک مخزن مرکزی از تمام اطلاعات مربوط به کارآزمایی بالینی است که شامل اطلاعات فنی، بالینی و عملیاتی می‌شود. در اصل، CTM که مخفف Clinical Trial Master File است، سندی است که تمام اطلاعات سازمانی، فنی و عملیاتی مربوط به یک کارآزمایی بالینی (Clinical Trial) را در خود جای می‌دهد. برخلاف IMPD که بر روی کیفیت دارو تمرکز دارد، CTM بر روی مدیریت و اجرای کارآزمایی تمرکز دارد. این سند مانند "کتابخانه" یا "حافظه سازمانی" کارآزمایی عمل می‌کند و در صورت بازرسی (Inspection) توسط نهادهای نظارتی، اولین منبع مرجع محسوب می‌شود. هدف CTM، ایجاد یک سیستم منسجم برای مدیریت اطلاعات کارآزمایی، اثبات اینکه کارآزمایی طبق اصول حرفه‌ای (GCP) و استانداردهای علمی انجام شده است؛ می‌باشد. محتوای CTM معمولاً به بخش‌های زیر طبقه‌بندی می‌شود (بر اساس استاندارد ICH E6):

الف) بخش‌های اصلی (Core Documents)

- اطلاعات عمومی کارآزمایی: عنوان، کد شناسه، نسخه پروتکل، و تاریخ شروع.
- پروتکل کارآزمایی (Protocol): نسخه نهایی و تمام نسخه‌های اصلاح‌شده (Amendments).
- فرم جمع‌آوری داده‌ها (CRF): نمونه‌ای از فرم‌هایی که برای ثبت داده‌های بیماران استفاده می‌شود.
- بروشور محقق (Investigator's Brochure - IB): سندی که اطلاعات علمی دارو را برای پزشکان محقق توضیح می‌دهد.
- اطلاعات دارو (IMP Information): شامل IMPD، برچسب‌های دارو و دستورالعمل‌های نگهداری.

ICH E6 که با نام کامل "راهنمای خوب شیوه‌های بالینی" (Good Clinical Practice - GCP) شناخته می‌شود، مهم‌ترین استاندارد بین‌المللی برای طراحی، انجام، ثبت و گزارش کارآزمایی‌های بالینی روی داروها است. این راهنما توسط کنفرانس هماهنگی بین‌المللی الزامات فنی برای داروهای ثبت‌شده (ICH) تدوین شده و هدف آن اطمینان از اینکه داده‌های کارآزمایی قابل اعتماد، دقیق و اخلاقی هستند. بر طبق اصول خوب شیوه‌های بالینی (GCP Principles)، کارآزمایی‌ها باید طبق اصول اخلاقی اعلامیه هلسینکی انجام شوند، ریسک‌ها و منافع باید ارزیابی شوند، و حقوق شرکت‌کنندگان باید محفوظ بماند.

سازمان غذا و دارو

عنوان			راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک
شماره	GUI-DPNA-BIO-014	تاریخ شروع اجراء	۱۴۰۵/۰۳/۰۱
شماره بازنگری	00	تاریخ اعتبار	-

ب) بخش‌های عملیاتی (Operational Documents)

مدیریت دارو (Drug Management):

- دستورالعمل‌های ذخیره‌سازی، توزیع و بازگرداندن دارو.
- سوابق ارسال دارو به مراکز درمانی.

مدیریت داده‌ها (Data Management):

- دستورالعمل‌های ورود داده‌ها، مدیریت خطاها و پاکسازی داده‌ها.

ج) بخش‌های نظارتی و اخلاقی (Regulatory & Ethics)

- مجوزها و تأییدیه‌ها: کمی مجوز کمیته اخلاق (IRB) و سازمان غذا و دارو.
- فرم‌های گزارش عوارض (SAE Forms): گزارش‌های عوارض جانبی جدی.
- مکاتبات: تمام نامه‌های رد و بدل شده با نهادهای نظارتی.

د) بخش‌های مالی و بیمه (Financial & Insurance)

- قرارداد بیمه: بیمه مسئولیت مدنی برای شرکت‌کننده‌ها.
- قراردادهای مالی: توافقات با مراکز درمانی و محققین.

هـ) بخش‌های مربوط به مواد اولیه (در مورد FBS)

اگر کارآزمایی شامل تولید دارو در محل (On-site manufacturing) یا استفاده از محصولات زیستی حساس باشد، بخشی از CTM باید به این موارد اختصاص یابد.

• بخش کیفیت (Quality Module):

- نگهداری تمام اسناد مربوط به تأمین‌کننده FBS (قراردادها، گواهی‌های GMP).
- ذخیره گزارش‌های ممیزی (Audit Reports) انجام شده روی کارخانه تولیدکننده سرم (در صورت وجود)

• بخش داروسازی (Pharmacy Module):

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

- دستورالعمل‌های عملیاتی استاندارد (SOP) برای نحوه ذوب کردن، فیلتر کردن و افزودن FBS به محیط کشت می بایست ارائه شود.
- گزارش‌های تست‌های داخلی (In-house Testing) که روی هر دسته FBS قبل از استفاده انجام شده است، می بایست مستند گردد.
- **بخش ایمنی (Safety Module):**
- ارزیابی ریسک (Risk Assessment) مربوط به استفاده از مواد حیوانی و خطر انتقال بیماری‌های مشترک (Zoonotic Risk) می بایست مستند گردد.

اصول PIC/S:

PIC/S که مخفف Pharmaceutical Inspection Co-operation Scheme (طرح همکاری بازرسی دارویی) است، یک سازمان بین‌المللی غیردولتی است که هدف آن هماهنگ‌سازی استانداردهای بازرسی دارویی (GMP) در سطح جهانی است. این سازمان استانداردهایی را تعیین می‌کند که بازرسان دارو برای ارزیابی ایمنی و کیفیت مواد اولیه حیوانی از آن استفاده می‌کنند. PIC/S راهنماهای GMP را منتشر می‌کند که بسیاری از کشورها (از جمله اعضای اتحادیه اروپا، ایران و بسیاری از کشورهای آسیایی) آن‌ها را پذیرفته‌اند.

پیوست ۱ (Annex 1) PIC/S: این بخش از GMP مربوط به تولید محصولات دارویی استریل است. اگرچه سرم خود یک دارو نیست، اما در تولید محصولات استریل (مانند واکسن‌ها یا تزریقات) استفاده می‌شود. طبق این پیوست، تمام مواد اولیه (از جمله سرم) باید از نظر میکروبی و ویروسی کنترل شوند.

پیوست ۲ (Annex 2): مربوط به مواد اولیه با منشأ بیولوژیک است که شامل سرم‌های حیوانی نیز می‌شود.

طبق استانداردهای PIC/S، تولیدکنندگان دارو باید هنگام استفاده از سرم، خطر انتقال بیماری‌های مشترک (Zoonotic) را مدیریت کنند که مشتمل بر ارزیابی ریسک TSE و تست‌های ویروسی: است (قبلاً شرح داده شده است). یکی از اصول کلیدی PIC/S این است که تولیدکننده دارو مسئولیت کیفیت تمام مواد اولیه خود را بر عهده دارد. شما نمی‌توان صرفاً بر اساس گواهی تحلیل (COA) به تولیدکننده سرم اعتماد نمود و می بایست سیستم‌های کیفیت تولیدکننده سرم ممیزی (Audit) شود. استاندارد PE 009-14: PIC/S سندی به نام "راهنمای ممیزی تأمین‌کنندگان مواد اولیه" دارد که نحوه بررسی کارخانه‌های تولید سرم را توضیح می‌دهد. همچنین، استانداردهای PIC/S بر قابلیت ردیابی مواد تأکید زیادی دارند، به طوریکه بازرسان بررسی می‌کنند که آیا می‌توان شماره لات سرم را از گله دامی تا محصول نهایی دارو ردیابی کرد یا خیر. به طور خلاصه، در مورد سرم، این سازمان تضمین می‌کند که



سازمان غذا و دارو

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

تولیدکنندگان دارو، سرم را از منابع ایمن تهیه کرده‌اند، تست‌های ویروسی کافی روی آن انجام شده و سیستم‌های تأمین‌کننده به درستی ممیزی شده‌اند. رعایت استانداردهای PIC/S برای تأیید پرونده‌های دارویی در سطح جهانی ضروری است.

۱۱- پیوست‌ها:

۱۱-۱ نمونه ای از فرم Certificate of Analysis (گواهی آنالیز) سرم با منشأ جنین گاوی (Fetal Bovine Serum: FBS)، از شرکت CORNING:

محتوای COA

- نوع محصول (Product): Fetal Bovine Serum
- شرح محصول (Description): محل تولید (United States Origin)، درجه کیفیت (premium)، غیر فعال‌سازی حرارتی شده (Heat Inactivated)
- شماره کاتالوگ (Catalogue Number)
- شماره لات (Lot Number)
- تاریخ غیر فعال‌سازی حرارتی (Date of Heat Inactivation)
- نوع غیر فعال‌سازی حرارتی (Type of Heat Inactivation): Individual Bottle Inactivation
به عنوان مثال:



سازمان غذا و دارو

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

- آزمون‌های انجام شده بر روی نمونه ماده (Testing Performed on):
به عنوان مثال: "بر روی محصول، پیش از غیرفعال‌سازی حرارتی"، (Product Prior to Heat Inactivation)
- دمای غیر فعال‌سازی حرارتی (Heat Inactivation Temperature):
به عنوان مثال: 56°C (±2°C) for 30 minutes

- شماره کاتالوگ مادر (اصلی) (Parent Catalog Number)
- شماره لات مادر (اصلی) (Parent Lot Number)^۱
- تاریخ تولید لات اصلی (Date of Parent Lot Manufacture)
- تاریخ انقضاء (Date of Expiration)
- کشور منشأ تولید ماده اولیه (Country of Raw Material Origin)
- کشور انجام پردازش نهائی (Country of Final Processing)
- سطح تضمین استریلیته (Sterility Assurance Level):
به عنوان مثال: 10⁻³ (Triple 0.1 µm Filtered)
- ذخیره‌سازی (Storage)

آزمون‌ها

Test	Method	Specification	Results	Units
Endotoxin	USP <85> & EP 2.6.14	≤ 5.0	<0.1	EU/mL
Hemoglobin	USP <90>	≤ 25	7.08	mg/dL
Mycoplasma	Barile and Kern & Hoechst Fluorochrome Stain	Not Detected	Not Detected	N/A
Osmolality	USP <785> & EP 2.2.35	280 – 360	318	mOsm/kg H ₂ O
pH	USP <791> & EP 2.2.3	7.0 – 8.0	7.03	N/A
Sterility (Bacteria & Fungi)	USP <71> & EP 2.6.1	No Growth	No Growth	N/A

^۱ یا شماره سری همان مخزن یا محموله اصلی است که محصول Parent Lot Number
بسیار حیاتی (Traceability) نهایی از آن برداشته شده است. این شماره برای ردیابی
است تا اگر مشکلی در محصول نهایی پیش بیاید، بتوان ریشه آن را در لات اصلی پیدا کرد.

سازمان غذا و دارو

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

Total Protein	USP <1057> & EP 2.5.33	3.0 – 4.5	3.5	g/dL
Gamma-Glutamyl Transferase (GGT)	Chemistry Analyzer	≤ 10	5	IU/L
Cell Growth Performance Testing	MTT Assay	Passed	Passed	N/A
Identification (Species ID)	EP 2.7.1	Bovine	Bovine	N/A
Virus Testing	9 CFR Part 113.53c			
Bluetongue Virus		Not Detected	Not Detected	N/A
Bovine Adenovirus 1 & 5		Not Detected	Not Detected	N/A
Bovine Parvovirus		Not Detected	Not Detected	N/A
Bovine Respiratory Syncytial Virus		Not Detected	Not Detected	N/A
Bovine Viral Diarrhea Virus		As Reported	<4	TCID50/mL
Rabies Virus		Not Detected	Not Detected	N/A
Reovirus		Not Detected	Not Detected	N/A
Cytopathogenic Agents (IBR)		Not Detected	Not Detected	N/A
Hemadsorbing Agents (PI3)		Not Detected	Not Detected	N/A
BVDV Serum Neutralization	Alpha Antibody Test			
BVDV Antibody Type 1		As Reported	No neutralization	N/A
BVDV Antibody Type 2		As Reported	No neutralization	N/A
Biochemical Testing - Proteins & Organic Compounds				
Alkaline Phosphatase		As Reported	231	IU/L
Blood Urea Nitrogen (BUN)		As Reported	15	mg/dL
Cholesterol		As Reported	27	mg/dL
Creatinine		As Reported	2.8	mg/dL
Glucose		As Reported	142	mg/dL
Glutamic Oxaloacetic Transaminase (AST)		As Reported	44	IU/L
Glutamic Pyruvic Transaminase (ALT)		As Reported	5	IU/L
High Density Lipoprotein Cholesterol (HDL)		As Reported	9	mg/dL
Immunoglobulin G (IgG)		As Reported	79.7	μg/mL
Low Density Lipoprotein Cholesterol (LDL)		As Reported	2	mg/dL
Total Bilirubin		As Reported	0.2	mg/dL
Triglyceride		As Reported	78	mg/dL
Uric Acid		As Reported	3.4	mg/dL
Biochemical Testing - Electrophoretic Profile	Cellulose Acetate Electrophoresis	Normal	Normal	N/A
Albumin		As Reported	2.0	g/dL
Alpha		As Reported	1.2	g/dL
Beta		As Reported	0.3	g/dL
Gamma		As Reported	0	g/dL
Biochemical Testing - Trace Metals				
Calcium		As Reported	12.8	mg/dL
Chloride		As Reported	97	mmol/L
Iron		As Reported	195	μg/dL
Magnesium		As Reported	3.0	mg/dL
Phosphorus		As Reported	10.2	mg/dL
Potassium		As Reported	12.7	mmol/L
Sodium		As Reported	138	mmol/L
Biochemical Testing - Hormones				
Cortisol		As Reported	0.250	μg/dL
Insulin		As Reported	9.70	μIU/mL
Progesterone		As Reported	<0.1	ng/mL
Testosterone		As Reported	<0.01	ng/mL
T3		As Reported	210.0	ng/dL
T4		As Reported	>40	μg/dL

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

در توضیح اینکه، عموماً فرآورده‌های بر پایهٔ سرم، می‌بایست گواهی تطابق (Certificate of Suitability) را دریافت نمایند. در اروپا معمولاً این گواهی از سوی اداره کل کیفیت داروهای اروپا (EDQM)^۱ صادر می‌شود و در ازای آن گواهی تطابق (CEP)^۲ با کد مشخصی اعطاء می‌گردد. این گواهی تأیید می‌نماید که محصول با معیارهای مندرج در نسخه کنونی فصل ۱۴۸۳ فارماکوپه اروپا^۳ تحت عنوان "محصول دارای خطر انتقال" بیماری‌های اسفنجی‌مانند انتقالی (Transmissible Spongiform Encephalopathies - TSEs)، مطابقت کامل دارد. این گواهی توسط EDQM صادر می‌شود و نشان می‌دهد که یک ماده اولیه دارویی (معمولاً مواد شیمیایی یا بیولوژیک مانند سرم یا آنزیم‌ها) با استانداردها و کیفیت لازم که در فصل‌های مربوطه فارماکوپه اروپا تعیین شده است، مطابقت دارد. داشتن این گواهی به تولیدکنندگان دارو کمک می‌کند تا نیازی نباشد برای هر بار واردات یا تولید دارو، مجدداً کیفیت آن ماده اولیه را در کشورهای عضو اتحادیه اروپا تست کنند، زیرا کیفیت آن قبلاً توسط EDQM تأیید شده است.

اظهارنامه‌های مربوط به منشأ سرم و بیماری‌های اسفنجی‌مانند (BSE/TSE)

تمامی سرم‌های جنین گاوی از جنین‌های گاوها و تلیسه‌های سالم (گاو ماده جوان که هنوز زایمان نکرده است)^۴، به دست می‌آید که در بازرسی‌های پیش از ذبح^۵ و پس از ذبح^۶، پذیرفته شده و فاقد بیماری‌های مسری تشخیص داده شده‌اند. لات‌های سرم می‌بایست از خون جنین گاوی که از تأسیسات برداشت دارای مجوز، جمع‌آوری شده است، تولید گردیده باشد. در ایالات متحده آمریکا، سرم‌ها باید از کشوری که توسط "سازمان بازرسی بهداشت گیاهی و دامی وزارت کشاورزی ایالات متحده (USDA-APHIS)"^۷ و "سازمان جهانی بهداشت حیوانات (WOAH)"^۸ آمریکا به عنوان کشور دارای ریسک ناچیز بیماری‌های اسفنجی‌مانند گاوی (BSE) - بیماری اسفنجی‌مانند انتقالی اختصاصی گاو (TSE)، شناخته شده است - اخذ گردیده باشد.

سرم‌های تجاری عموماً و صرفاً برای مصارف تحقیقاتی (research) یا تولید بیشتر (further manufacturing) تهیه و تولید می‌شوند و در اینصورت نباید به عنوان ماده کمکی (excipient) استفاده شود. همچنین عموماً سرم‌های تجاری، برای مصارف درمانی (therapeutics uses) یا تشخیصی (diagnostic uses) مجاز نبوده و قابل مصرف برای انسان یا حیوان نیستند. در نتیجه استفاده از این محصولات خارج از موارد مندرج در برچسب شرکت تولیدی‌شان، مصداق نقض قوانین است. سرم می‌بایست طبق مشخصات (Specifications) و روش‌های آزمایشگاهی، که در تاریخ تولید فرآورده معتبر بوده‌اند، مورد آزمون‌های دقیق قرار گیرد. روش‌های آزمایش (Testing procedures)، در صورت امکان، مطابق با آخرین نسخه‌های فارماکوپه آمریکا (USP) و/یا فارماکوپه اروپا (EP) رعایت شوند. در آزمون عملکرد رشد سلول (Cell

¹ European Directorate for the Quality of Medicines (EDQM)

² Certificate of Suitability to the Monographs of the European Pharmacopoeia (CEP)

³ No. 1483 of the European Pharmacopoeia

⁴ Healthy bovine cows and heifers

⁵ Ante

⁶ Post mortem

⁷ United States Department of Agriculture - Animal and Plant Health Inspection Service (USDA-APHIS)

⁸ World Organization for Animal Health (WOAH)



سازمان غذا و دارو

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

Growth Performance Testing)، که عموماً آزمون MTT است، از رده‌های سلولی (سل لاین) از قبیل 3T3، L929، MDCK، و Vero استفاده می‌شود.

۱۱-۲- نمونه Certificate of Analysis برای Adult Bovine Serum:

Template - Certificate of Analysis (CoA)

Certificate of Analysis (CoA)

Product Information

- **Product Name:** Adult Bovine Serum
- **Batch/Lot No.:** [_____]
- **Catalogue No.:** [_____]
- **Manufacturer:** [Name, Address]
- **Address:** [_____]
- **Production Date/Date of Manufacture:** [YYYY-MM-DD]
- **Expiry of Date:** [YYYY-MM-DD]
- **Catalogue No.:** [Optional]
- **Country of Origin:** [_____]
- **Storage Conditions:** [_____]

Quality Tests and Results

Test/Parameters (آزمون / معیار)	Tests/Methods (آزمون‌ها / روش‌ها)	Specification/Acceptance Criteria (مشخصات قابل قبول / حدود پذیرش)	Result (نتیجه)	Complies? (میزان انطباق) بله / خیر
Appearance (ظاهر)	Inspection Visual (ارزیابی بصری)	Clear, amber liquid (مایع شفاف کهربائی)	[value] (عدد) نتیجه	Yes/No
pH (at 20–25°C)	Ph. Eur. / USP	6.8 – 8.2	[value]	Yes/No

سازمان غذا و دارو

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

			(عدد)	
Total Protein (پروتئین کل)	Biuret / Lowry Method	55-85 g/L	[value] (عدد)	Yes/No
Albumin (آلبومین)	Protein Assay	≥ 30 g/L	[value] (عدد)	Yes/No
Osmolality (اسمولالیت)	Osmometer	270-340 mOsm/kg	[value] (عدد)	Yes/No
Endotoxin (اندوتوکسین)	LAL Test	≤ 10 EU/m	[value] (عدد)	Yes/No
Hemoglobin (هموگلوبین)	UV-Vis	≤ 20 mg/dL	[value] (عدد)	Yes/No
Sterility (Ph. Eur/USP) (آزمون استریلیتی)	Ph. Eur. 2.6.1	No growth (عدم رشد)	[value] (عدد) نتیجه	Yes/No
Mycoplasma (مایکوپلازما)	Ph. Eur. 2.6.7	Not Detected (عدم شناسایی)	[value] (عدد) نتیجه	Yes/No
Virus Testing* (ویروس های خالص گاوی)	Ph. Eur. / USP	In accordance with Ph. Eur/USP (مطابق فارماکوپه)	[value] (عدد) نتیجه	Yes/No
Country BSE/TSE status (وضعیت BSE/TSE کشور)	Regulatory Compliance	Free/Negligible (عاری/ناچیز)	[value] (عدد) نتیجه	Yes/No
Adventitious Agents (عوامل ناخواسته)	Cell Culture / PCR	Tested, Not Detected (مورد بررسی، شناسایی نشود)	[value] (عدد) نتیجه	Yes/No
Filtration (فیلتراسیون)		0.1/0.2 μ m, sterile filtered	Yes	Yes

*بسته به مقصد (ایران، اروپا، آمریکا، سایر کشورها) مشخصات برخی آزمون‌ها می‌تواند تفاوت داشته باشد.

Remarks:

(Additional comments on sample condition, deviations, or observations):

QA Approval

Analyst Name: [Name, Job Title] (کارشناس صادر کننده: نام/سمت)

Job Title:

Date of Issue: [YYYY-MM-DD] (تاریخ صدور: روز/ماه/سال)



سازمان غذا و دارو

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

Signature/Stamp (امضاء و مهر)

Approved by Quality Assurance:

Name:

Title:

Signature/Stamp (امضاء و مهر)

Date of Issue: [YYYY-MM-DD] (تاریخ صدور: روز/ماه/سال)

This Certificate of Analysis confirms that the above batch has been tested and meets all relevant specifications for quality, purity, safety, and performance according to defined standards.

۱۱-۳- برندهای پیشنهادی Clinical-Grade FBS

- **Thermo Fisher Scientific**
GMP, US-origin, low endotoxin, high performance
- **Merck Millipore**
Clinical-Grade, US-sourced, lots traceable
- **GE Healthcare (HyClone)**
GMP, viral-inactivated options available
- **Atlanta Biologicals**
High-quality clinical-grade batches
- **BioIVT**
Custom sourcing with full biosafety documentation

۱۲- فهرست منابع

۱. Johnson M. Fetal bovine serum. Materials and Methods. 2012;2.(۱۱۷)
۲. Puri G, Chaudhary S, Singh V, Sharma A. Effects of fetal bovine serum and estrus buffalo serum on maturation of buffalo (Bubalus bubalis) oocytes in vitro. Veterinary world. 2015;8(2):۱۴۳.



سازمان غذا و دارو

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

۳. Fang C-Y, Wu C-C, Fang C-L, Chen W-Y, Chen C-L. Long-term growth comparison studies of FBS and FBS alternatives in six head and neck cell lines. PloS one. 2017;12(6):e0178960.

۴. Information for Blood Establishments Regarding FDA's Determination that Zika Virus is no Longer a Relevant Transfusion-Transmitted Infection, and Withdrawal of Guidance titled "Revised Recommendations for Reducing the Risk of Zika Virus Transmission by Blood and 581 Blood Components", May 12, 2021, <https://www.fda.gov/media/148549/download>.

۵. Minonzio G, Linetsky E. The use of fetal bovine serum in cellular products for clinical applications: commentary. CellR4. 2014;2(6):e1307.

۶. Yoneda T TT, Bando K, Choi BH, Chang R, Fujiwara Y, et al. Nonclinical and quality assessment of cell therapy products: Report on the 4th Asia Partnership Conference of Regenerative Medicine, . Cytotherapy. April 15, 2021;892–904.

۷. Toshimitsu Tanaka KY, Ryan Chang, Bryan Choi, Ying Gai, Pawan Kumar Gupta, Udaykumar Kolkundkar, Shing-Mou Lee, Sunray Lee, Wenbin Liao, Xiang Zhao, Koji Takakura. Comparison of guidelines for biological ancillary materials used for the manufacture of gene and cellular therapy products in Asia. CYTOTHERAPY. 2023.

۸. United States Pharmacopoeia. 1043: Ancillary materials for cell, gene, and tissueengineered products.

۹. Ph. Eur. General Chapter 5.2.12. Raw materials of biological origin for the production of cell-based and gene therapy medicinal products.

۱۰. Pharmacopeia of the People's Republic of China Volume III. Quality control of ancillary materials and excipients during the production of biological products.

۱۱. Taiwan Pharmacopeia (v.9 5040) Biological Materials required for cell and gene

therapy products.

۱۲. MHLW Notification No. 37, February 28, 2018 .Standards for Biological Materials.

۱۳. United States Pharmacopoeia. 90: Fetal bovine serum Quality attributes and functionality tests.

۱۴. United States Pharmacopoeia. 1024: Bovine serum.

۱۵. Ph. Eur. 2262: Bovine serum.

۱۶. European Medicines Agency. Guideline on the use of bovine serum in the manufacture of human biological medicinal products. EMA/CHMP/BWP/457920/2012 rev 1. https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific/guideline/guidelineuse-bovine-serum-manufacture-human-biological-medicinal-products_en.pdf [accessed Oct 11 2022].

۱۷. Ph. Eur. General Chapter 5.2.8. Minimising the risk of transmitting animal spongiform encephalopathy agents via human and veterinary medicinal products.

۱۸. Ph. Eur. 1483: Products with risk of transmitting agents of animal spongiform encephalopathies.

۱۹. Pharmacopeia of the People's Republic of China Volume, III, 3604. Newborn bovine serum.

۲۰. Taiwan Pharmacopeia (v.9 5094) Bovine serum.

۲۱. FDA Guidance for industry. Monoclonal antibodies used as reagents in drug manufacturing. <https://www.fda.gov/files/vaccines%2C%20blood%20%26%20biologics/published/Guidance-for-Industry-Monoclonal-Antibodies-Used-asReagents-in-Drug-Manufacturing.pdf> [accessed Oct 11 2022].

۲۲. European Medicines Agency. Guideline on the use of trypsin used in the manufacture of human biological medicinal products. EMA/CHMP/BWP/814397/2011. <https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific->



سازمان غذا و دارو

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

[guideline/guideline-useporcine-trypsin-used-manufacture-human-biological-medicinal-products_en.pdf](#) [accessed Oct 11 2022].

.۲۳ Ph. Eur. 0694: Trypsin.

.۲۴ United States Pharmacopoeia. 92: Growth factors and cytokines used in cell therapy manufacturing.

.۲۵ United States Pharmacopoeia. 89: Enzymes used as ancillary materials in pharmaceutical manufacturing.

.۲۶ Ph. Eur. 1483: Products with risk of transmitting agents of animal spongiform encephalopathies.

.۲۷ Ph. Eur. 0694: Trypsin. .

.۲۸ MHLW Notification, PFSB/ELD No. 1002-1. PFSB/ELD/OMDE No. 1002-5, 2014. Implementation of Standards for Biological Materials.

.۲۹ Chinese Pharmacopoeia risk level.

.۳۰ Indian Council of Medical Research. National guidelines for stem cell research. Department of Biotechnology; 2017 https://dbtindia.gov.in/sites/default/files/National_Guidelines_StemCellResearch-2017.pdf [accessed Jun 1 2022].

.۳۱ Indian Council of Medical Research. Central Drugs Standard Control Organisation. National guidelines for gene therapy product development & clinical trials. Department of Biotechnology; 2019 https://www.nhp.gov.in/NHPfiles/guidelines_GTP.pdf [accessed Jun 1 2022].

.۳۲ PMDA Notification, No. 0614043, 2016. Technical guidance for the quality of regenerative medical products (human cell processed products) and implementation of non-clinical and clinical studies.

.۳۳ PSEHB/MDED Notification No. 0709-2, 2019. Quality and Safety Assurance for Gene Therapy Products and Human Cell-based Products.

.۳۴ PFSB/MHLW Notification, No. 0907-2, No. 0907-3, 2012. Quality and Safety Assurance for Drugs and Medical Devices Manufactured Using Human Autologous/Allogenic Somatic Stem Cells.

.۳۵ PFSB/MHLW Notification, No. 0907-4, No. 0907-5, 2012. Quality and Safety Assurance for Drugs and Medical Devices Manufactured Using Human Autologous/Allogenic iPS (-like) cells.

.۳۶ PFSB/MHLW Notification, No. 0907.۲۰۱۲, ۶-Quality and Safety Assurance for Drugs and Medical Devices Manufactured Using Human ES cells.

.۳۷ Hayakawa T AT, Umezawa A, Ozawa K, Sato Y, Sawa Y, et al. . A study on ensuring the quality and safety of pharmaceuticals and medical devices derived from the processing of autologous human somatic stem cells. . Regen Ther. 2015;;2:57-69.

.۳۸ Hayakawa T AT, Umezawa A, Ozawa K, Sato Y, Sawa Y, et al. A study on ensuring the quality and safety of pharmaceuticals and medical devices derived from the processing of allogeneic human somatic stem cells. . Regen Ther 2015;2:70-80.

.۳۹ Hayakawa T AT, Umezawa A, Ozawa K, Sato Y, Sawa Y, et al. A study on ensuring the quality and safety of pharmaceuticals and medical devices derived from processing of autologous human induced pluripotent stem(-like) cells. . Regen Ther. 2015;2:81-94.

.۴۰ Hayakawa T AT, Umezawa A, Ozawa K, Sato Y, Sawa Y, et al. A study on ensuring the quality and safety of pharmaceuticals and medical devices derived from processing of allogeneic human induced pluripotent stem(-like) cells. Regen Ther. 2015 2:95-108.

.۴۱ Hayakawa T AT, Umezawa A, Ozawa K, Sato Y, Sawa Y, et al. . A study on ensuring the quality and safety of pharmaceuticals and medical devices derived from the processing of human embryonic stem cells .



سازمان غذا و دارو

راهنمای استفاده از ترکیبات دارای منشأ حیوانی و انسانی در تولید فرآورده‌های بیولوژیک			عنوان
۱۴۰۵/۰۳/۰۱	تاریخ شروع اجراء	GUI-DPNA-BIO-014	شماره
-	تاریخ اعتبار	00	شماره بازنگری

.Regen Ther. 2015;2:109–22.

.۴۲ MFDS notification No. 2020-82. The provision on product approval and review of biopharmaceuticals.

.۴۳ MFDS 2022. Guideline on the requirements for quality dossier of cell and gene therapy products.

.۴۴ MFDS2021.Guideline for cell bank evaluation of cell therapy products.

.۴۵ MFDS 2010. Guideline on the characterization of cell substrates used to produce biologicals.

.۴۶ Taiwan Pharmacopeia (v.9 3071) Sterility.

.۴۷ Taiwan Pharmacopeia (v.9 5063 (Mycoplasma.

.۴۸ WHO guidelines on tissue infectivity distribution in transmissible spongiform encephalopathies Geneva, World Health Organization, 2006 (<http://www.who.int/bloodproducts/tse/WHO%20TSE%20Guidelines%20FINAL-22%20JuneupdatedNL.pdf>, accessed 18 June 2011)

.۴۹ Requirements for the collection, processing and quality control of blood, blood components and plasma derivatives. In: WHO Expert Committee on Biological Standardization. Forty-third report. Geneva, World Health Organization, 1994) WHO Technical Report Series, No 840), Annex 2. 1994.

.۵۰ WHO guidelines on tissue infectivity distribution in transmissible spongiform encephalopathies .Geneva, World Health Organization. (<http://www.who.int/bloodproducts/tse/WHO%20TSE%20Guidelines%20FINAL-22%20JuneupdatedNL.pdf>, accessed 18 June 2011). 2006.

.۵۱ Note for Guidance on Minimising the Risk of Transmitting Animal Spongiform Encephalopathy Agents Via Human and Veterinary Medicinal Products (EMA/410/01 rev. 3). .

.۵۲ Note for Guidance on Virus Validation Studies: the Design, Contribution and Interpretation of Studies Validating the Inactivation and Removal of Viruses (CPMP/BWP/268/95). .

.۵۳ Note for Guidance on Biotechnological/biological products subject to changes in their manufacturing process, ICH Q5E (CPMP/ICH/5721/03).