

不同工艺制备的静注人免疫球蛋白产品质量对比研究

井金荣 杨列清* 张为松 陈加泉 李 阳 刘守峰
山东泰邦生物制品有限公司 山东 泰安 271000

摘要: 静注人免疫球蛋白 (IVIG) 是提取自健康人血浆的血液制品, 核心成分是免疫球蛋白G (IgG), 用于治疗免疫缺陷病、自身免疫性疾病及严重感染。当前IVIG制备工艺多样, 各工艺在血浆处理、纯化、灭活等环节差异大, 影响产品质量与用药安全。本文选取改良低温乙醇法、离子交换层析法、膜分离-层析联合法三种主流工艺制备样品, 构建全维度质量检测体系, 精准检测对比分析质量差异, 探究影响机制, 筛选最优工艺并提出建议。结果显示膜分离-层析联合法产品综合质量最优, 为工艺优化等提供参考。

关键词: 静注人免疫球蛋白; 制备工艺; 质量对比; 纯化; 质量检测

引言: 静注人免疫球蛋白是临床重要的血液制品, 能补充机体抗体、调节免疫功能, 在多种免疫相关疾病治疗中作用关键, 其质量关乎疗效与用药安全。当下IVIG制备工艺众多, 主流有改良低温乙醇法、离子交换层析法、膜分离-层析联合法等, 各工艺核心环节与操作参数不同, 产品纯度、抗体活性、杂质残留有别。传统工艺易出现纯度、活性问题, 新型工艺质量稳定性待验证。开展质量对比研究, 明确工艺优劣与影响规律、优化参数, 对提升质量、保障安全意义重大。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验所用健康人血浆来源于正规血站, 经检测无乙肝病毒、丙肝病毒、艾滋病病毒等病原体污染; 主要试剂包括离子交换层析介质、凝胶过滤层析介质、纳米膜、IgG标准品、内毒素检测试剂盒、抗体活性检测试剂盒等, 均为符合国家标准分析纯或生物试剂; 主要仪器包括高效液相色谱仪、酶标仪、低温离心机、纳米颗粒跟踪分析仪、病毒核酸检测仪等, 经校准后使用, 确保检测精度。

1.2 制备工艺选择与样品制备

选国内IVIG生产常用的改良低温乙醇法、离子交换层析法、膜分离-层析联合法3种主流工艺。以同批次健康人血浆为原料, 每种工艺设3个平行样。改良低温乙醇法: 分级沉淀, 调血浆pH至7.0, 0℃加乙醇至18%浓度, 离心收集沉淀; 再调pH至6.0, 加乙醇至25%浓度离心纯化; 经透析脱醇、巴氏消毒灭活病毒, 加甘氨酸稳定剂, 调渗透压, 过滤除菌制成注射液^[1]。离子交换层析

法: 血浆预处理后上样, 经梯度洗脱、凝胶过滤层析纯化, 低pH孵育灭活病毒后制剂。膜分离-层析联合法: 血浆过滤预处理, 纳米膜超滤浓缩, 亲和层析纯化, 双病毒清除/灭活后加蔗糖稳定剂制剂。

1.3 质量检测指标与方法

构建全维度IVIG质量检测体系, 涵盖纯度、活性、安全性、稳定性四大类指标, 依血液制品质量标准检测。纯度指标: 用高效液相色谱法, 以特定色谱柱、流动相、流速及检测波长, 检测IgG纯度与杂蛋白含量。活性指标: 酶联免疫吸附法测IgG亚类分布及多种抗体活性, 通过Fc段结合实验评估效应功能并算活性回收率。安全性指标: PCR法测病毒核酸残留, 浊度法测内毒素含量, 纳米颗粒跟踪分析法测蛋白聚合物含量, 致敏性实验评估致敏风险。稳定性指标: 加速与长期稳定性实验, 每月检测多项指标并观察外观, 评估稳定性。

1.4 数据统计与分析

采用SPSS26.0统计软件对检测数据进行分析, 计量资料以均数±标准差表示, 组间比较采用方差分析与t检验, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义; 绘制质量对比图表, 直观呈现不同工艺产品的质量差异, 结合检测结果分析工艺对产品质量的影响机制^[2]。

2 结果

2.1 不同工艺IVIG产品纯度指标对比

3种工艺制备的IVIG产品纯度指标检测结果如表1所示。膜分离-层析联合法制备的产品IgG纯度最高, 平均为 $98.6 \pm 0.3\%$, 杂蛋白含量最低; 离子交换层析法次之, IgG纯度平均为 $96.8 \pm 0.4\%$; 改良低温乙醇法IgG纯度最低, 平均为 $94.2 \pm 0.5\%$ 。组间比较显示, 3种工艺的IgG纯度及杂蛋白含量差异均具有统计学意义 ($P < 0.05$), 表明膜分离-层析联合法的纯化效果最优, 改良低温乙醇法

通讯作者: 杨列清, 1984年06月出生, 男, 汉族, 山东省滕州市, 高级工程师, 硕士研究生, 研究方向: 血液制品分离纯化技术。

纯化效果相对较差。

表1 不同工艺IVIG产品纯度指标对比

工艺名称	IgG纯度 (%)	白蛋白含量 (%)	IgA含量 (%)	IgM含量 (%)
改良低温乙醇法	94.2±0.5	1.8±0.2	0.9±0.1	0.6±0.1
离子交换层析法	96.8±0.4	0.9±0.1	0.5±0.1	0.3±0.05
膜分离-层析联合法	98.6±0.3	0.5±0.1	0.3±0.05	0.2±0.03

2.2 不同工艺IVIG产品活性指标对比

活性指标检测结果表明, 3种工艺产品的IgG亚类分布均符合国家标准, IgG1、IgG2、IgG3、IgG4比例协调。膜分离-层析联合法产品的IgG亚类分布更均匀, 活性回收率最高, 平均为92.3±1.2%; 抗乙型肝炎病毒抗体、抗破伤风毒素抗体活性均显著高于其他两种工艺。离子交换层析法产品活性回收率为88.5±1.5%, 抗体滴度略低于膜分离-层析联合法; 改良低温乙醇法产品活性回收率最低, 为82.1±1.8%, 抗体滴度明显低于前两种工艺, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$), 说明膜分离-层析联合法能更好地保留IgG天然活性。具体数据如表2所示。

表2 不同工艺IVIG产品活性指标对比

工艺名称	活性回收率 (%)	抗乙型肝炎病毒抗体滴度	抗破伤风毒素抗体滴度
改良低温乙醇法	82.1±1.8	1:640	1:320
离子交换层析法	88.5±1.5	1:1024	1:512
膜分离-层析联合法	92.3±1.2	1:1280	1:640

2.3 不同工艺IVIG产品安全性指标对比

安全性指标检测结果显示, 3种工艺产品均未检测到乙型肝炎病毒、丙型肝炎病毒、艾滋病病毒核酸, 符合病毒残留控制要求。膜分离-层析联合法产品内毒素含量最低, 蛋白聚合物含量最低, 无致敏性反应; 离子交换层析法产品次之; 改良低温乙醇法产品内毒素含量和蛋白聚合物含量相对较高。各项指标虽均符合限值要求, 但组间差异具有统计学意义 ($P < 0.05$), 表明膜分离-层析联合法制备的产品安全性更优^[3]。具体数据如表3所示。

表3 不同工艺IVIG产品安全性指标对比

工艺名称	内毒素含量 (EU/mL)	蛋白聚合物含量 (%)	致敏性反应
改良低温乙醇法	0.38±0.05	4.8±0.5	无
离子交换层析法	0.25±0.04	3.5±0.4	无
膜分离-层析联合法	0.12±0.03	2.1±0.3	无

2.4 不同工艺IVIG产品稳定性指标对比

稳定性实验结果显示, 加速稳定性实验6个月后,

膜分离-层析联合法产品IgG纯度下降幅度最小, 仅为1.2±0.1%, 抗体活性保留率为89.5±1.3%, pH值、渗透压无明显变化, 外观无浑浊、沉淀; 离子交换层析法产品IgG纯度下降1.8±0.2%, 抗体活性保留率为85.3±1.4%; 改良低温乙醇法产品IgG纯度下降3.5±0.3%, 抗体活性保留率为78.6±1.5%, 且出现轻微浑浊。长期稳定性实验24个月, 膜分离-层析联合法产品仍能保持良好的质量稳定性, 而改良低温乙醇法产品质量下降明显, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。

3 讨论

3.1 不同工艺对IVIG产品质量的影响机制

纯化是关键, 改良低温乙醇法靠乙醇分级沉淀纯化, 受乙醇浓度、温度、pH值影响大, 难彻底除杂蛋白, 低温还可能使部分IgG变性, 降低抗体活性, 产品纯度与活性偏低。离子交换层析法通过特异性结合IgG纯化, 效果优于低温乙醇法, 但洗脱条件控制不好易损失IgG活性, 且难完全去除小分子杂质, 杂蛋白与聚合物含量比膜分离-层析联合法略高。膜分离-层析联合法融合二者优势, 膜分离避免有机溶剂接触, 减少蛋白质变性风险, 经纳米膜超滤浓缩与亲和层析双重纯化, 大幅提升产品纯度。病毒安全上, 采用双重病毒清除/灭活策略, 互补且不影响IgG活性, 该工艺产品在纯度、活性、安全性、稳定性方面表现最佳。

3.2 不同工艺的应用场景与优化建议

改良低温乙醇法成熟、成本低、规模化强, 适用于对纯度要求不高、成本敏感的生产场景。可优化乙醇浓度等条件, 增设二次纯化环节, 提升产品纯度与活性。离子交换层析法纯化效果佳, 适合中等规模生产, 可优化层析介质与洗脱条件, 用线性梯度洗脱并收集峰尖, 缩短时间、减少抗体活性损失、降低蛋白聚合物含量。膜分离-层析联合法质量最优但成本高, 可优化膜孔径等降低生产成本、提升规模化能力, 纳米膜过滤环节要监控膜完整性。此工艺适合对质量要求高的临床场景^[4]。另外, 无论何种工艺, 都要加强原料血浆质量控制, 建立工艺参数实时监控体系, 完善质量检测体系, 保障产品质量稳定。

3.3 研究局限性

本研究仅选取3种主流制备工艺, 未涵盖所有新型工艺, 研究范围有限; 实验样品为实验室小规模制备, 未实现工业化规模化生产验证, 工艺稳定性仍需进一步验证; 质量检测指标未涵盖所有潜在质量风险点。后续可扩大工艺筛选范围, 开展规模化生产实验, 完善质量检测体系, 结合临床疗效数据, 全面评估不同工艺产品的

临床价值。

4 质量控制措施

基于质量对比与工艺影响机制，从生产全流程管控 IVIG 产品质量。(1) 原料控制：严格筛选正规血站健康人血浆，全面检测剔除污染、不合格血浆，建立供血者档案与血浆追溯体系，保障原料安全。(2) 工艺控制：建立各工艺核心环节参数监控体系。改良低温乙醇法重点监控乙醇浓度等波动；离子交换层析法关注洗脱梯度等；膜分离-层析联合法监控膜完整性等关键参数，确保工艺稳定。(3) 检测控制：完善检测体系，增加抗补体活性等检测指标，提升方法灵敏度与准确性，实现全流程检测^[5]。(4) 储存与运输控制：按2-8℃低温条件操作，建立运输温度监控记录，保证冷链完整。(5) 质量追溯：建立追溯体系，实现全程可追溯，以便及时处理质量问题，形成闭环管理。

结束语

静注人免疫球蛋白质量关乎临床疗效与安全，制备工艺差异是影响其质量的核心因素。本文对三种主流工艺制备的 IVIG 产品进行全维度质量对比，发现膜分离-层析联合法产品在纯度、活性、安全性、稳定性上综合最优，改良低温乙醇法相对较差。不同工艺的核心环节如

纯化方式、病毒灭活策略等对产品质量产生显著影响。通过优化工艺参数、完善质控措施可有效提升产品质量。本研究为工艺优化与质量控制提供了数据支撑和理论依据，后续需扩大研究范围，开展规模化生产验证与临床疗效关联研究，推动工艺持续升级，为临床提供更安全有效的血液制品。

参考文献

- [1]黄邦春,黄锦程,吴翠,等.不同粗制工艺纯化静注人免疫球蛋白的对比研究[J].生物化工,2025,11(6):86-90.
- [2]曹璟,吴鹏,王斌,等.静注人免疫球蛋白(pH4)工艺优化后产品的稳定性[J].中国生物制品学杂志,2023,36(11):1319-1323.
- [3]柯兵兵,程梦兰,王媛媛,等.静注人免疫球蛋白中抗补体活性物质基础的探索性研究[J].中国医药工业杂志,2024,55(11):1550-1555.
- [4]张宝献,刘亚芳,张剑涛,等.静注人免疫球蛋白纯化用层析介质使用寿命的验证[J].中国生物制品学杂志,2022,35(11):1392-1396.
- [5]郭全娟,张振,朱孟沼.富含IgA和IgM的人免疫球蛋白纯化及临床应用进展[J].中国生物制品学杂志,2025,38(10):1253-1257,1262.