10%静脉注射用水痘 - 带状疱疹人免疫球蛋白的研制

周志军[1]，岳胜兰[1]，周晓燕[2]，陈丽梅[1]，单　晶[1]，胡　勇[1*]

（1. 国药集团武汉生物制药有限公司科研开发部，湖北武汉 430207；2. 上海荣盛生物药业股份有限公司质量控制室，上海 201108）

摘要：探索了 10%静脉注射用水痘 - 带状疱疹人免疫球蛋白（VZIG）半成品的制备方法。首先，采用 ELISA 法定量检测 VZIG 抗体，按测得效价筛选健康供体血浆，制备不同效价（ELISA 法测定）的混合血浆小样；再采用膜抗原荧光抗体（FAMA）法检测对应效价，比较 2 种检测方法的相关性。同时，根据人群中 VZIG 抗体不同 ELISA 效价的分布，用追溯法替代普筛法优化合格血浆采集方案。将合格血浆混合投料，用全色谱纯化工艺制备了 2 批 VZIG 半成品。结果显示，FAMA 法与 ELISA 法测得的效价相关性良好（相关系数 r=0.976，决定系数 R^2=0.951 7，P<0.000 1）。血浆初筛结果显示，健康人血浆中 VZIG 抗体的阳性率很高（94.18%），但高 ELISA 效价（≥ 3.000 IU/mL）血浆的占比很低（1.62%）。采用追溯法替代普筛法来收集合格血浆能大幅降低检测成本、缩短采集时间。与传统的低温乙醇工艺相比，2 批全色谱纯化工艺制备的半成品中抗 A 和抗 B 凝集素、免疫球蛋白 A 和免疫球蛋白 M 的残留明显降低，免疫球蛋白 G 亚类分布类似，辛酸钠残留低于检测限；其他关键指标均符合 ChP 2025 年版静注人免疫球蛋白的要求。半成品效价（FAMA 法测定）均≥ 50.000 IU/mL，比活性 >0.5 IU/mL，达到 EP 11.0 版静注用水痘人免疫球蛋白的标准。

关键词：静脉注射用水痘 - 带状疱疹人免疫球蛋白；半成品；全色谱工艺；膜抗原荧光抗体检测法；酶联免疫吸附试验；相关性；效价

中图分类号：R392；TQ464　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：1001-8255(2026)01-0074-07

引用：周志军, 岳胜兰, 周晓燕, 等. 10%静脉注射用水痘-带状疱疹人免疫球蛋白的研制[J]. 中国医药工业杂志, 2026, **57**(1): 74-80. DOI：10.16522/j.cnki.cjph.2026.01.007

Preparation of 10% Human Varicella-zoster Immunoglobulin for Intravenous Injection

ZHOU Zhijun[1], YUE Shenglan[1], ZHOU Xiaoyan[2], CHEN Limei[1], SHAN Jing[1], HU Yong[1*]

(*1. Scientific Research and Development, Sinopharm Wuhan Biopharmaceuticals Co., Ltd., Wuhan 430207;*

2. Quality Control Room of Shanghai Rongsheng Biopharmaceutical Co., Ltd., Shanghai 201108)

ABSTRACT: This study developed a preparation method for semi-finished products of 10% human varicella-zoster immunoglobulin (VZIG) for intravenous injection. First, an ELISA method was used to quantitatively detect VZIG antibody potency. Plasma units from healthy donors were screened based on their measured ELISA potency, and small mixed-plasma samples with different ELISA potency were prepared. Then, a membrane antigen immunofluorescence antibody detection (namely fluorescence-antibody-to-membrane-antigen, FAMA) method was performed to detect the corresponding potency, and the correlation between the two detection methods was compared. Meanwhile, based on the distribution of ELISA potency in the donor population, a retrospective screening approach replaced universal screening to optimize qualified plasma collection. Finally, qualified plasma units with different ELISA potency were pooled as starting material, and two batches of VZIG intermediate product were prepared using a full chromatography purification process. The results showed that there was a strong correlation between FAMA and ELISA potency [correlation coefficient (r) was 0.976, coefficient of determination (R^2) was 0.951 7, P<0.000 1]. High antibody positivity rate to VZIG (94.18%) but low proportion of high-potency plasma (ELISA potency ≥ 3.000 IU/mL) was found in healthy donors. Retrospective screening significantly reduced testing costs and collection time. Compared to the traditional cold ethanol fractionation process, the full chromatographic process significantly lowered the residual levels of anti-A, anti-B, immunoglobulin (Ig) A, and IgM in the semi-finished product with similar IgG subclass distributions and undetectable sodium caprylate. Other key

quality indicators complied with the requirements of ChP 2025 edition. The semi-finished products had FAMA potency ≥ 50.000 IU/mL and specific activities over 0.5 IU/mL, meeting EP 11.0 standards for intravenous varicella immunoglobulin.

Key Words: varicella-zoster human immunoglobulin for intravenous injection; semi-finished product; chromatography process; membrane antigen immunofluorescence antibody assay; enzyme-linked immunosorbent assay; correlation; potency

水痘-带状疱疹病毒（varicella-zoster virus，VZV）[1] 是疱疹病毒科α亚科的成员，能引起水痘和带状疱疹2种疾病，是世界范围内广泛分布的人类病原体。VZV是人类特有的嗜神经病毒，原发感染后可长期潜伏于神经节细胞中[2]；免疫功能下降、疾病等因素可再激活VZV，引起带状疱疹后神经痛、眼部病变、脊髓炎、脑膜炎、脑炎、血管病变等并发症，在全球造成疾病负担。VZV在实体器官移植受体中临床症状表现明显。患者移植后面临着潜伏的既往感染病毒再激活或新发感染的风险[3]，可导致受体生活质量降低、再入院率提高、经济压力增加，甚至影响移植物功能，严重时可导致死亡。接种疫苗[4]是预防VZV的措施之一，同时也需要研制相应的治疗药物。

目前，人血浆来源的水痘-带状疱疹人免疫球蛋白（human varicella-zoster immunoglobulin，VZIG）已在国外上市，如加拿大Cangene公司生产的VariZIG®[5]，而国内尚无非静脉注射的VZIG制品。本课题组前期进行了用于血浆初筛的ELISA试剂盒选择及定量检测方法的建立和验证[6]，所测得VZIG抗体效价称作“ELISA效价”。本研究采用该法对3 262份血浆样本进行筛查，并制备了不同效价的小样混合血浆，送上海荣盛公司进行膜抗原荧光抗体（fluorescence-antibody-to-membrane-antigen，FAMA）检测[7]，所测得效价称作“FAMA效价”。对两种方法的检测结果进行相关性分析，以确定原料血浆和成品的效价检测方法，并收集合格血浆，以全色谱工艺制备产品并检定，制备10%静脉注射用VZIG，以期为新的特异性免疫球蛋白研发提供新思路。

收稿日期：2025-08-04
基金项目：湖北省中国科学院科技合作专项项目（无编号）
作者简介：周志军，研究员，从事血液制品的研发。
通信作者：胡　勇，副研究员，从事血液制品的研发管理工作。

1 仪器与试药

SpectraMAX plus384型酶标仪（自带软件Softmax7.1，美国Molecular Devices公司）；Model 3111型CO_2细胞培养箱（美国Thermo公司）；ECLIPSE TS2型荧光显微镜（日本Nikon公司）；BN ProSpec® 型特定蛋白分析仪［西门子（中国）有限公司］。

用于初筛的3 262份原料血浆小样由本公司质量控制室提供，按照本公司下属13个浆站每个浆站随机选取100～300份留样；用于制备10%静脉注射用VZIG的200袋合格血浆（整袋）由本公司生产管理部提供；小样混合血浆系列（P1～P6）来源于本公司下属13个浆站2022年采集的血浆小样，经本公司研发部检测得ELISA效价后按照不同效价分布混合制备；2批10%静脉注射用VZIG样品对应的合并血浆P7、P8，半成品B1（批号G202307001）、B2（批号G202311002），均由本公司研发部制备。1批低温乙醇工艺制备的5%静注人免疫球蛋白（intravenous immunoglobulin，IVIG）由本公司质量控制部提供，批号202208025。

VZIG抗体ELISA检测试剂盒（德国维润赛润研发有限公司，批号EN0152和EN0154）；WHO第1代VZIG国际标准品［以下简称“WHO标准品”，NIBSC code W1044，每支50.000 0 IU，为含8% IgG浓缩物2 mL的冻干品，英国国家生物制品检定所（International Institute for Biological Standards and control，NIBSC）］；异硫氰酸荧光素（fluorescein isothiocyanate，FITC）标记羊抗人IgG（美国SIGMA公司，批号109M4836V）；特定蛋白仪所用免疫浊度法检测试剂包括：白蛋白（albumin，ALB），免疫球蛋白（immunoglobulin，Ig）G、A、M，转铁蛋白（transferin，TRF）、α_1-抗胰蛋白酶（α_1-antitrypsin，AAT）、α_2-巨球蛋白（α_2-macroglobin，A2M）、触珠蛋白（haptoglobin，HPT）、α_1-酸性糖蛋白（α_1-acid glycoprotein，AAG）、铜蓝蛋白（ceruloplasmin，CER）、纤维蛋白原（fibrinogen，FIB）、抗凝血酶Ⅲ（antithrombin Ⅲ，AT Ⅲ）、C1酯酶抑制剂（C1 esterase inhibitor，C1I）、纤维

蛋白溶解酶原（plasminogen，PLS）、纤维连接蛋白（fibronectin，FNC）、IgG1、IgG2、乳胶增强试剂 IgM（Latex）、IgA（Latex）、IgG3n、IgG4n，对应的血浆控制品和标准品均购自西门子（中国）有限公司。

人胚肺成纤维细胞（MRC-5 细胞）、VZV Oka 株购自美国典型培养物保藏中心（American Type Culture Collection，ATCC）。

2　方法与结果

2.1　原料血浆的初筛

2020 年筛选了 10 个浆站的血浆小样，按照每个浆站 200 份随机取样，实际共计 1 962 份；2022 年筛选了 13 个浆站的血浆小样，按照每个浆站 100 份随机取样，共计 1 300 份。采用 VZIG 抗体 ELISA 检测试剂盒和 WHO 标准品母液（2.000 0 IU/mL），参照文献[6]方法定量检测原料血浆中 VZIG 抗体的 ELISA 效价。

ELISA 法[6]：待测样品以 1 ∶ 900 稀释（1 ∶ 30 系列稀释，共 2 次，样品实际稀释倍数为 9，以使 1 次检测能筛查出效价在 0.141 ～ 18.000 IU/mL 的血浆），WHO 标准品母液按 1 ∶ 100 稀释后再进行 2 倍系列稀释。稀释后样品均按每孔 100 μL 加至 96 孔酶标板对应的孔中，37 ℃孵育 60 min 后，用稀释 20 倍的洗涤液按每孔 250 μL 清洗孔板 5 次，拍干后，加入碱性磷酸酶标记的抗人 IgG 抗体每孔 100 μL，37 ℃孵育 30 min 后，再次用稀释 20 倍的洗涤液按每孔 250 μL 清洗孔板 5 次，拍干后，每孔加入底物溶液 100 μL，于 37 ℃孵育 30 min 后，每孔加入终止液 100 μL，用酶标仪检测，记录 405 nm 处的光密度值（OD_{405}），用外标法计算待测样品的 ELISA 效价。方法学验证结果显示，该法定量范围为 0.016 ～ 2.000 IU/mL，准确度和精密度均达到验证要求。

对 3 262 份血浆样品中 VZIG 抗体的 ELISA 效价进行分档统计，了解 VZV 自然感染状态下的抗体分布。结果（表 1）显示，在献浆员所代表的健康人群中，VZIG 抗体的阳性率为 94.18%，ELISA 效价≥ 3.000 IU/mL 的比例为 1.62%，≥ 2.000 IU/mL 的比例为 3.46%。

表 1　3 262 份血浆中 VZIG 抗体的 ELISA 效价分布

Tab.1　ELISA Potency Distribution of VZIG Antibody in 3 262 Plasma Samples

分类	ELISA 效价 /（IU·mL^{-1}）	血浆样品数 / 份		总份数	占比 /%
		2020 年	2022 年		
阴性及临界值	<0.100	112	78	190	5.82
弱阳性	0.100 ～ 1.000	1 569	1 142	2 711	83.11
	1.000 ～ 2.000	213	35	248	7.60
强阳性	2.000 ～ 3.000	38	22	60	1.84
	≥ 3.000	30	23	53	1.62

2.2　原料血浆初筛和半成品效价检定方法的确定

取 6 个代表性小样混合血浆，按 ELISA 效价确定预稀释倍数，再将经预稀释的样品用 PBS 进行 2 倍系列稀释，用于 FAMA 法检测。以出现阳性的最高稀释度 × 预稀释倍数作为检测结果，通过抗原片的灵敏度折算 FAMA 效价范围。

FAMA 法[7]：将 VZV 感染后的 MRC-5 细胞作为抗原固定在抗原片上，采用 pH 7.4 的 PBS 对待检样品进行 2 倍系列稀释，每孔 10 μL 加至抗原片上，于 37 ℃孵育 30 min；用 pH 7.4 的 PBS 洗片后加入含伊文斯兰的合适浓度 FITC 标记羊抗人 IgG，每孔 10 μL，再于 37 ℃孵育 30 min；用 pH 7.4 的 PBS 洗片后加甘油缓冲液（甘油和碳酸盐缓冲液以体积比 9 ∶ 1 混合）1 滴封片，于荧光显微镜下观察结果。

FAMA 法中所形成的抗原 - 抗体复合物主要位于感染细胞表面，细胞边缘出现完整的黄绿色荧光环者判为阳性，未出现者判为阴性。试验中同时设立阴性对照与阳性对照。以样品出现阳性的最高稀释度作为 FAMA 效价，进行半定量检测。通过以上 6 个代表性样品的 ELISA 效价和 FAMA 效价的比值来判断 2 种方法检测结果的相关性。为了便于进行相关性分析，将 FAMA 法的半定量结果“≥ XX IU/mL”计为“XX IU/mL”，用 GraphPad Prism 9.0 软件进行简单线性回归分析和双尾 Spearman 分析，计算相关系数（r）、决定系数（R^2）及 P 值。

结果如表 2 所示。简单线性回归分析结果显示，ELISA 效价与 FAMA 效价的相关性高（R^2=0.951 7，P<0.000 1），因此以 ELISA 法作为血浆抗体初筛方

表 2 代表性样品的 ELISA 效价和 FAMA 效价的检测结果

Tab.2 ELISA Potency and FAMA Potency Results of the Representative Samples

样品批次	ELISA 效价 /（IU·mL^{-1}）	样品数 / 份	ELISA 法		FAMA 法	
			稀释倍数	效价 /（IU·mL^{-1}）	预稀释倍数	效价 /（IU·mL^{-1}）
P1	1.000 ～ 2.000	35	9	1.819	5	1.568
P2	2.000 ～ 3.000	22	9	2.711	5	1.568
P3	3.000 ～ 4.000	12	9	3.839	5	1.568
P4	4.000 ～ 6.000	7	9	5.060	5	3.136
P5	6.000 ～ 10.000	3	9	8.527	5	3.136
P6	>10.000	1	9	10.187	5	12.544

法，以 FAMA 法作为半成品效价检定方法是可行的。

2.3 合格血浆采集方案的优化

2020 年，采用传统的普筛法收集合格血浆，即首先采用 ELISA 法检测每袋原料血浆小样的 VZIG 抗体效价，然后按 ELISA 效价≥ 1.500 IU/mL 的标准确定合格献浆员名单；待全部检测完成后，在未出库血浆中查找合格献浆员对应的整袋合格血浆。为提高合格血浆采集效率，本课题组于 2022 年建立了在初筛获得合格献浆员名单的同时，从未出库血浆中滚动收集合格献浆员对应的合格血浆的血浆采集方案（以下简称“追溯法”）[8]。该法首先预设 1 个原料血浆的初筛合格标准（如 ELISA 效价≥ 3.000 IU/mL），仅通过 1 次筛查获得合格献浆员名单，然后通过确定较高 ELISA 效价保持稳定的时间来保证滚动收集合格血浆的时间（目前为 8 个月），最后检测合格血浆小样的合并血浆的 ELISA 效价，从而判断整个方案采集的血浆能否达到制备注射用 VZIG 所需的投料标准，同时判断预设的初筛合格标准是否合适。该方案的优势在于既无需对所有原料血浆进行无差别普筛，又无需对追溯后收集到的合格血浆进行每份小样的 VZIG 抗体检测，只需确定合格献浆员名单和实施 8 个月内的血浆追溯即可。

按照普筛法，2020 年检测了 1 962 份原料血浆，收集方案历时半年，筛选到 108 名 ELISA 效价≥ 1.500 IU/mL 的合格献浆员，其中 ELISA 效价≥ 3.000 IU/mL 的合格献浆员仅有 30 名，待原料血浆检测完成后再去收集对应的整袋血浆，因部分合格血浆已经出库，最终仅获得 48 份整袋血浆。2022 年按 ELISA 效价≥ 3.000 IU/mL 的初筛标准，采用追溯法，历时 3 个月，在 13 个浆站 1 300 份血浆中共获得 23 名合格献浆员名单，再用追溯合格献浆员滚动收集合格血浆的优化方案，在未出库血浆中追溯得到 152 份合格的整袋血浆。对 2020 年普筛法收浆方案和 2022 年追溯法优化方案的每袋合格血浆的检测成本进行核算。按 1 个试剂盒（2 000 元）检测 87 份样品（每个样品 1 孔，标准品系列 8 个孔，空白 1 个孔，每块 96 孔酶标板最多可检测 87 个样品）计算，每个小样检测成本为 23 元，每袋合格血浆的理论检测成本为（23× 初筛血浆份数）/ 合格血浆袋数。普筛法和追溯法的血浆采集方案的成本（表 3）显示：按照 2022 年追溯法方案获得 ELISA 效价≥ 3.000 IU/mL 标准的 152 袋合格血浆的理论成本为 196.7 元；2020 年按普筛法 ELISA 效价≥ 1.500 IU/mL 标准获得合格血浆（理论上 108 人收到 108 袋血浆）的理论成本为 417.8 元，但实际只收到 48 份合格血浆袋，故实际成本为 940.1 元，若按 2022 年 ELISA 效价≥ 3.000 IU/mL 的标准获得合格血浆（理论上 30 人收到 30 袋血浆）的理论成本为 1 504.2 元。由此可见，追溯法优化方案能大幅降低检测成本。

2.4 10% VZIG 的制备及检定

根据采集的合格血浆袋数，按 50 L 规模的全色谱工艺可制备 2 批 10% VZIG。其中 G202307001 批选用的 100 袋原料血浆为 2020 年筛选的 48 袋血浆和

表 3 不同血浆采集方案的成本比较

Tab.3 Cost Comparison of Different Plasma Collection Schemes

年份	初筛标准 /（IU·mL^{-1}）	采集方案	初筛血浆数 / 份	合格献浆员人数	合格血浆袋数	每袋血浆理论检测成本 / 元	每袋血浆实际检测成本 / 元	花费时间 / 月
2020 年	≥ 1.500	普筛法	1 962	108	48	417.8	940.1[1)]	6
2022 年	≥ 3.000	追溯法	1 300	23	152	196.7	196.7	3

注：[1)]2020 年合格血浆的实际收获量仅为 48 袋，此为每袋血浆的实际检测成本。

2022 年筛选的 52 袋血浆；G202311002 批选用的 100 袋血浆均为 2022 年筛选得到的。分别合并 100 袋原料血浆，4 ℃离心 (8 000×*g*) 20 min，取冷上清液 (4 ℃) 用 4 μm 深层过滤器过滤，然后进行阴离子交换树脂二乙基氨基乙基葡聚糖 A50(DEAE Sephadex A-50，以下简称 A50) 吸附、亲和色谱 (MAbsortents® A2P 亲和凝胶)、辛酸盐沉淀和二乙基氨基乙基 (DEAE) 离子交换色谱 (PuraBead HF) 纯化，所得流穿液经超滤浓缩后即为 10% VZIG 的半成品 B1、B2。按特定蛋白分析仪说明书进行操作，对半成品中不同血浆蛋白的含量进行检测 [9]。因特定蛋白分析仪采用的是免疫比浊法，故蛋白含量可定义为抗原含量。首先，进行各个血浆蛋白的标准曲线和质控品检测，标准曲线成立后，质控品结果为标示值 ±15% 的判为合格；然后，进行工艺纯化各步骤样品的特定血浆蛋白抗原含量检测（包括目标蛋白 IgG 及杂质蛋白）。根据不同蛋白的标准曲线范围，选择不同的样品稀释度进行检测。为了方便后续计算，将“小于检测下限”计为“检测下限值”。首先，计算各蛋白在不同步骤目标组分中的总量（浓度 × 质量）；然后，计算不同纯化步骤目标组分中主要杂质蛋白的占比（单个蛋白量 / 所有检出蛋白总量 ×100%），分析哪些是共纯化的主要杂质蛋白，从而监控工艺中杂质蛋白的流向与分布，以及 IgG 的纯化效果。最后用特定蛋白仪和乳胶增强试剂检测半成品中的 IgG 亚类和微量 IgA、IgM、ALB。将半成品送质量控制室，按 ChP 2025 年版三部静脉注射用人免疫球蛋白的要求检测蛋白含量、纯度、IgA 含量、辛酸钠残留量、分子大小及分布、抗 A 和抗 B 凝集素。用“**2.1**”项下 ELISA 法和“**2.2**”项下 FAMA 法检测合并血浆及半成品中的 VZIG 抗体效价。

色谱工艺过程中各步骤样品，即合并血浆、A50 吸附流穿液、亲和色谱洗脱液、辛酸盐沉淀上清超滤液、DEAE 离子交换色谱流穿液和超滤液（原液）中的特定蛋白检测结果如图 1 所示。A50 吸附流穿液中除了 CER、FNC、C1I 外，其他特定蛋白的总量与合并血浆相比差异不大，主要蛋白为 IgG、FIB 和 ALB；亲和色谱洗脱液中主要成分为 IgG 和 FIB，说明该步骤是主要的纯化步骤；辛酸盐沉淀上清超滤液中除 IgG 以外，仅有微量 IgM 和 ALB，而 DEAE 离子交换色谱主要去除的是 IgM，说明这

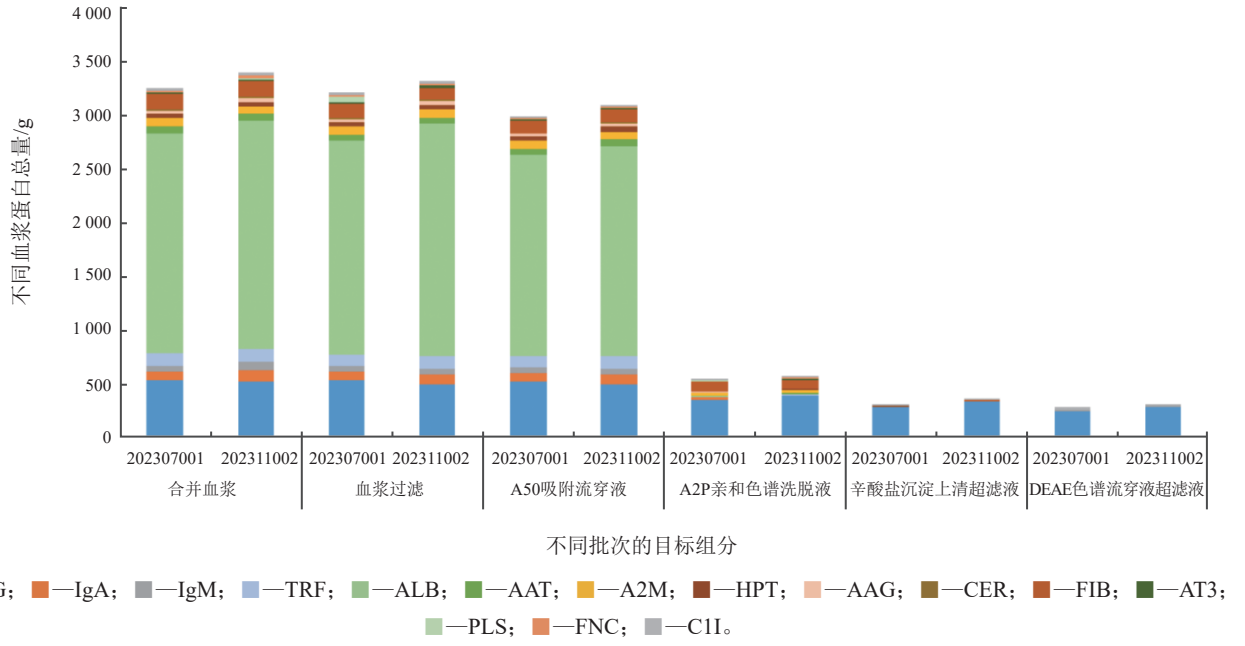


图 1　2 批半成品色谱工艺过程各步骤样品中的血浆蛋白分布

Fig.1　Distribution of Plasma Proteins in Samples during Chromatographic Process of Two Batches of Semi-finished Product

2 个纯化步骤为精制步骤。2 批半成品的检测结果汇总如表 4 所示，提示该工艺重复性好，且其中蛋白含量、纯度、分子大小及分布、抗 A 和抗 B 凝集素指标均符合 ChP 2025 年版三部 IVIG 的要求。与低温乙醇工艺制备的 5% IVIG 相比，10% VZIG 半成品中的 AlB、IgA 和 IgM 残留明显降低，IgG 亚类分布类似，辛酸钠残留量低于检测限。合并血浆及 10% VZIG 半成品的 VZIG 抗体效价如表 5 所示，计算出的比活性均 >0.5 IU/mg(53.587/103=0.52 和 74.374/103=0.72)，达到 EP 11.0 版静注水痘人免疫球蛋白的标准。

表 4 2 批半成品检定项目结果汇总及其与 5% IVIG 的对比

Tab.4 Results of Two Batches of Semi-finished Product Verification Items and Their Comparison with 5% IVIG

检定项目	10% VZIG 半成品		5% IVIG 低温乙醇工艺	
	G202307001	G202311002	ChP 2025 年版标准	202208025
蛋白质含量 /(g·L^{-1})	103	103	≥ 50	52
抗 A 和抗 B 凝集素	1 ∶ 4	1 ∶ 4	≤ 1 ∶ 64	1 ∶ 16
纯度 /%	99.6	99.5	≥ 95.0	99.6
分子大小及分布 /%	100	100	单体 + 二聚体≥ 95.0	98.7
IgA/(mg·L^{-1})	18	13	未作要求	127
IgG/(g·L^{-1})	98.7	97.2	未作要求	58.5
ALB/(mg·L^{-1})	57.4	11.9	未作要求	512
IgM/(mg·L^{-1})	0.6	0.4	未作要求	256
辛酸钠 /(mg·L^{-1})	<10	<10	未作要求	—
IgG1/(g·L^{-1})	68.6	64.5	未作要求	31.7
IgG2/(g·L^{-1})	29.0	29.9	未作要求	16.5
IgG3n/(mg·L^{-1})	5.1	4.5	未作要求	2.2
IgG4n/(mg·L^{-1})	3.8	5.0	未作要求	1.1

注：“—”表示未检测。

3 总结与讨论

本研究采用 ELISA 法检测 VZIG 抗体完成了 3 262 份原料血浆的初筛，并考察了小样混合血浆的 ELISA 效价和 FAMA 效价的相关性。试验结果表明，将 ELISA 法用于原料血浆的初筛，FAMA 法用于合并血浆和半成品检定的组合是可行的。

目前，国际上检测 VZIG 抗体的方法很多，其中 FAMA 法和 ELISA 法应用广泛[10]。本公司选择的 ELISA 检测试剂盒采用与 VZV 中和抗体高度相关的糖蛋白（glycoproteins，gp）作为包被抗原[11]。通常而言，gp-ELISA 具有较高的敏感性和特异性，与 FAMA 法的检测结果具有较高一致性，因此被视作 FAMA 法的潜在替代方案。具有中和抗原表位的 gp 由于与 VZV 致病性和免疫原性相关，并且主要位于病毒囊膜和感染细胞膜上，而 FAMA 法测定的是分布在 VZV 感染细胞表面、与保护作用相关的病毒特异性抗体，因此该法被认为是 VZV 抗体检测的“金标准”[12]。本研究中委托进行 FAMA 检测的合作公司使用化学固定的 VZV 感染细胞以提高产量和效率。该方法为中国食品药品检定院（以下简称“中检院”）指定的水痘疫苗临床试验血清抗体检测方法；而该公司为中检院的合作单位，为中检院 FAMA 法提供所需的 VZV 感染细胞后固定化抗原片，因此结果具有权威性。ELISA 法检测结果显示，血浆中 VZIG 抗体阳性率为 94.18%，ELISA 效价≥ 2.000 IU/mL 的比例为 3.46%，与文献[13]报道一致。这说明 VZV 是一种自然感染率较高但是高效价占比非常低的病毒。虽然目前国内带状疱疹疫苗已经上市，但其高昂的价格导致目前成年人接种率仍然较低，人群中高效价的 VZIG 抗体占比仍然很低，因此追溯法的优化方案目前仍然有很大的应用空间。对于类似 VZV 这种自然感染率高但高效价抗体占比低的其他病毒抗体筛选，这个优化方案能大幅降低检测成本，缩短合格血浆采集时间，缩小筛选范围。

表 5 合并血浆及半成品的 ELISA 效价和 FAMA 效价

Tab.5 ELISA and FAMA Potency of Pooled Plasma and Semi-finished Products

编号	ELISA 法			FAMA 法	
	效价范围 /(IU·mL^{-1})	稀释倍数	效价 /(IU·mL^{-1})	预稀释倍数	效价 /(IU·mL^{-1})
P7	>1.500	9	2.872	5	≥ 3.136
P8	>3.000	9	5.528	5	≥ 6.272
B1	≥ 50.000	98	53.587	20	≥ 50.176
B2	≥ 50.000	98	74.374	20	≥ 50.176

按 EP 11.0 版要求，5% VZ-IVIG 的效价不低于 25.000 IU/mL，比活性为 0.500 IU/mg，那么若制备

10%注射用VZIG，则效价必须≥ 50.000 IU/mL。按健康人血浆中IgG平均含量约为9 g/L进行推算，IgG浓度通过纯化工艺可浓缩11倍，则10%注射用VZIG原料血浆的投料标准效价理论值应≥ 4.500 IU/mL。而根据本研究对3 262份血浆的ELISA法检测结果，健康人血浆中VZIG抗体ELISA效价≥ 3.000 IU/mL的比例为1.62%，若按照≥ 4.500 IU/mL的标准进行原料血浆初筛的成本是巨大的。因此，本研究根据以往特异性免疫球蛋白的研发经验，通过混合不同效价（ELISA）档位血浆制备VZ-IVIG的完整工艺过程来反推合并血浆的投料标准是否可以降低。全色谱纯化IgG工艺仅需50 L血浆，即可在3 d内完成10%注射用VZIG半成品的制备。该工艺能小规模、快速、稳定地制备IVIG，有助于了解蛋白浓缩倍数与特异性抗体效价提升的关系，对于特异性免疫球蛋白产品的研发具有重要意义。本研究制备了2批10% VZ-IVIG，ELISA效价的提升比例分别为18.66（53.587/2.872）和13.45（74.374/5.528），差异较大且高于IgG的蛋白理论浓缩比例11.11（100/9），提示效价提升与蛋白浓缩比例并不一致。因此，为了提高阳性血浆的利用率，可以考虑将原料血浆的投料标准下调。由于FAMA法目前为半定量方法，2批半成品的FAMA效价差异并不明显（≥ 50 IU/mL，< 100 IU/mL），但与定量检测的ELISA效价相匹配；但对应的合并血浆的ELISA效价和FAMA效价差异十分明显，说明通过调整不同效价血浆的比例，只要达到合并血浆的FAMA效价≥ 3.136 IU/mL或者效价（ELISA）≥ 2.872 IU/mL，就能制备出符合EP 11.0版要求的比活性高于0.500 IU/mg的VZ-IVIG。

特异性人免疫球蛋白产品的开发关键点在于血浆初筛方案的选择、成品中和抗体检测方法的建立、合并血浆效价标准的确定，成品制备工艺的优化。本研究不仅圆满完成了10% 注射用VZ-IVIG的研发工作，也为新的特异性免疫球蛋白的研发提供了新思路。

参考文献：

[1] PATIL A, GOLDUST M, WOLLINA U, *et al*. Herpes zoster: a review of clinical manifestations and management [J]. *Viruses*, 2022, **14**(2): 192.

[2] KENNEDY P G E, MOGENSEN T H. Varicella-zoster virus infection of neurons derived from neural stem cells [J]. *Viruses*, 2021, **13**(3): 485.

[3] ARNAUD G L, CEDRIC H, VICTOR H F, *et al*. Evaluation of recombinant herpes zoster vaccine for primary immunization of varicella-seronegative transplant recipients [J]. *Transplantation*, 2021, **105**(10): 2316-2323.

[4] WANG W, PAN D Q, FU W K, *et al*. Development of a skin- and neuro-attenuated live vaccine for varicella [J]. *Nat Commun*, 2022, **13**(1): 824.

[5] FDA. Varizig [EB/OL]. (2018-05-03) [2023-09-05]. https://www. fda. gov/vaccines-blood-biologics/approved-blood-products/varizig.

[6] 周志军, 陈克金, 林连珍, 等. 水痘-带状疱疹病毒IgG抗体ELISA定量检测方法的优化、验证及应用[J]. 中国生物制品学杂志, 2023, **37**(8): 973-979.

[7] 谢　云, 李秀玲, 刘立新, 等. 建立膜抗原荧光抗体试验评价北京株冻干水痘疫苗免疫效果[J]. 微生物学免疫学进展, 2005, **33**(2): 6-10.

[8] 周志军, 陈丽梅, 岳胜兰, 等. 追溯合格献浆员滚动采集较高效价水痘-带状疱疹病毒IgG血浆的可行性分析[J]. 微生物学免疫学进展, 2024, **52**(4): 34-41.

[9] 周志军, 岳胜兰, 彭　焱, 等. 全层析工艺制备10%静脉注射用水痘-带状疱疹人免疫球蛋白的质量控制[J]. 微生物学免疫学进展, 2024, **52**(5): 48-55.

[10] PAN D Q, WANG W, CHENG T. Current methods for the detection of antibodies of varicella-zoster virus: a review [J]. *Microorganisms*, 2023, **11**(2): 519.

[11] SAUERBREI A, WUTZLER P. Serological detection of specific IgG to varicella-zoster virus by novel ELISA based on viral glycoprotein antigen [J]. *Clin Lab*, 2009, **55**(1/2): 1-7.

[12] OTANI N, TANAKA M, MAEDA K, *et al*. Varicella zoster virus antibody detection: a comparison of four commonly used techniques [J]. *Infect Chemother*, 2016, **22**(4): 225-228.

[13] 胡跃华, 罗旭飞, 吕　萌, 等. 中国健康人群水痘-带状疱疹病毒抗体水平的Meta分析[J]. 中华流行病学杂志, 2021, **42**(9): 1650-1661.