

H2减毒株甲型病毒性肝炎灭活疫苗制备及免疫剂量分析

李宏森¹, 平玲^{1,2}, 王正鑫¹, 蒋厚菲¹, 侯丁琳¹, 张艺榕¹, 王灵犀¹, 杨净思^{1,2}

1. 中国医学科学院北京协和医学院医学生物学研究所, 云南 昆明 650118;

2. 昆明市新发突发高致病性病原体疫苗研发和产业化企业科技创新中心, 云南 昆明 650118

摘要: **目的** 利用甲型肝炎(甲肝)病毒(HAV) H2减毒株制备甲肝灭活疫苗, 分析免疫剂量, 为甲肝灭活疫苗的研发与生产提供参考。**方法** 采用HAV H2减毒株感染人胚肺二倍体细胞(KMB17)增殖病毒, 收获含病毒的细胞, 经提取、纯化和灭活后, 制备成疫苗原液和抗原含量为1 280 EU/mL的试验疫苗; 根据《中华人民共和国药典》三部(2020年版)对疫苗的各项指标进行检定。110只小鼠随机分为11组, 包括试验疫苗、参比疫苗各5个剂量组(80、160、320、640和1 280 EU/剂)和佐剂对照组, 腹腔注射免疫2次, 检测血清HAV抗体, 分析抗体几何平均滴度(GMT)和抗体阳转率, 判断免疫剂量。**结果** 病毒收获液的抗原含量和病毒滴度分别为5 120 EU/mL和8.33 lgCCID₅₀/mL, 杂蛋白去除率为98.05%, 抗原回收率为66.25%; 试验疫苗各项指标检定结果均符合《中华人民共和国药典》三部(2020年版)的要求。试验疫苗和参比疫苗各剂量组二次免疫后小鼠血清HAV抗体GMT较初次免疫平均增加2倍以上; 无论初次免疫还是二次免疫, 试验疫苗160 EU/剂及以上剂量组小鼠血清HAV抗体GMT(log₂)高于80 EU/剂组(均 $P<0.05$), 但160 EU/剂及以上剂量组之间差异无统计学意义(均 $P>0.05$); 二次免疫后, 试验疫苗160 EU/剂及以上组HAV抗体阳转率均为100.00%。**结论** 本研究制备的H2减毒株甲肝灭活疫苗在小鼠体内具有良好的免疫原性, 可作为甲肝灭活疫苗的候选疫苗, 初步分析其免疫剂量为320 EU/剂(儿童)和640 EU/剂(成人)。

关键词: H2减毒株; 甲肝灭活疫苗; 免疫原性; 免疫剂量

中图分类号: R186 文献标识码: A 文章编号: 2096-5087(2024)05-0407-06

Preparation and immunizing dose analysis of inactivated hepatitis A vaccine using attenuated H2 strain

LI Hongsen¹, PING Ling^{1,2}, WANG Zhengxin¹, JIANG Houfei¹, HOU Dinglin¹, ZHANG Yirong¹,
WANG Lingxi¹, YANG Jingsi^{1,2}

1. Institute of Medical Biology, Peking Union Medical College, Chinese Academy of Medical Sciences, Kunming, Yunnan 650118, China; 2. Kunming Science and Technology Innovation Center for R&D and Industrialization of Emerging Highly Pathogenic Pathogen Vaccines, Kunming, Yunnan 650118, China

Abstract: Objective To prepare an inactivated hepatitis A vaccine using a attenuated strain of hepatitis A virus (HAV) H2 and to analyze its immunizing dose, so as to provide the reference for development and production of inactivated hepatitis A vaccines. **Methods** Human embryonic lung diploid cells (KMB17) were infected with attenuated HAV H2 strain to proliferate the virus, then the cells containing viruses were harvested, extracted and purified. The obtained virus concentrate was prepared into vaccine bulk and test vaccines with 1 280 EU/mL antigen content. Vaccine testing was carried out according to the inactivated hepatitis A vaccine standards specified in the Part III of the Pharmacopoeia of the People's Republic of China (2020 edition). A total of 110 mice were randomly divided into 11 groups, includ-

DOI: 10.19485/j.cnki.issn2096-5087.2024.05.009

基金项目: 云南省重大科技专项计划项目(202002AA100009, 202302AA310003)

作者简介: 李宏森, 硕士研究生在读, 病原生物学专业

通信作者: 杨净思, E-mail: yjs@imbcams.com.cn

ing 5 dose groups (80, 160, 320, 640 and 1 280 EU/dose) of the test vaccine and the reference vaccine, as well as the adjuvant control group. Mice were immunized twice by intraperitoneal injection, their serum HAV antibodies were detected, and the geometric mean titer (GMT) and positive conversion rate of antibodies were analyzed to evaluate the immunising dose of the vaccine. **Results** The antigen content and viral titer of the virus harvest solution were 5 120 EU/mL and 8.33 lgCCID₅₀/mL, respectively. The removal rate of foreign protein reached 98.05% and the recovery rate of antigen was 66.25%. The test vaccine met the requirements of Part III of the Pharmacopoeia of the People's Republic of China (2020 edition). The GMTs of HAV antibodies in the test vaccine and the reference vaccine dose groups after the second immunization were more than twice higher than those after the first immunization. Regardless of primary immunization or secondary immunization, the GMTs (log₂) of HAV antibodies in the test vaccine groups with doses of 160 EU/dose and above were higher than those in the 80 EU/dose group (all $P < 0.05$), while there was no statistically significant differences between the dose groups of 160 EU/dose and above (all $P > 0.05$). The antibody positive conversion rate of 160 EU/dose and above of the test vaccine was 100.00% after the secondary immunization. **Conclusions** The inactivated hepatitis A vaccine of attenuated H2 strain tested in this study demonstrates strong immunogenicity in mice, suggesting its potential as a candidate vaccine. The preliminary analysis indicates an immunizing dose of 320 EU/dose for children and 640 EU/dose for adults.

Keywords: attenuated H2 strain; inactivated hepatitis A vaccine; immunogenicity; immunizing dose

甲型病毒性肝炎（甲肝）疫苗主要包括减毒活疫苗和灭活疫苗，灭活疫苗在安全性、有效性和使用范围方面比减毒活疫苗有优势^[1-3]，随着灭活疫苗的需求增加，未来国内灭活疫苗可能将逐步取代减毒活疫苗。甲肝病毒（hepatitis A virus, HAV）H2减毒株一直作为冻干甲肝减毒活疫苗的生产用毒株，经猴体试验、人二倍体细胞体外试验和基因序列测定，证实其减毒性质与遗传稳定^[4-6]，且能诱导机体产生良好的体液免疫和细胞免疫应答^[7]。此外，利用减毒株制备甲肝灭活疫苗可以降低生产过程中的生物安全风险^[8]。本研究借鉴 Sabin 减毒株脊髓灰质炎灭活疫苗研制成功经验^[9]，采用 HAV H2 减毒株制备甲肝灭活疫苗，并分析其在小鼠体内的免疫原性和免疫剂量，为研发和生产甲肝灭活疫苗提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 细胞、毒株与疫苗

人胚肺二倍体细胞（KMB17）和 HAV H2 减毒株由中国医学科学院医学生物学研究所（医科院生物所）生物制品二室提供。参比疫苗为市售国产甲肝灭活疫苗，购自艾美康准生物制药（江苏）有限公司。

1.1.2 实验动物

SPF 级动物房饲养 5~6 周的 NIH 小鼠 110 只，雌雄各半，体重 16~18 g，由医科院生物所小动物实验部提供，饲养许可证号为 SYXk（滇）K2022-0006。

1.1.3 主要试剂与仪器

MEM 培养基由医科院生物所提供；三氯甲烷

（分析纯）购自重庆川东化工（集团）有限公司；磷酸盐缓冲液（PBS）购自中国西陇科学股份有限公司；120 mg/mL 甘氨酸由医科院生物所提供；甲醛（分析纯）购自德国默克 Sigma-Aldrich 公司；Pierce BCA 蛋白定量分析试剂盒购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司；HAV 抗原检测试剂盒、抗 HAV 抗体检测试剂盒和氢氧化铝佐剂由医科院生物所提供；100 KD 超滤膜包和 0.22 μm 除菌过滤器购自德国默克 Millipore 公司；Phenyl Sepharose 6FF（low sub）凝胶层析介质及层析柱 XK26/50 购自思拓凡公司。二氧化碳培养箱 3111 购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司；超声粉碎机 VC600 购自美国 SONICS 公司；立式大容量高速冷冻离心机 AVANTI JXN-26 购自美国 BECKMAN COULTER 公司；全自动层析纯化系统 AKTA avant 150 购自美国 GE 医疗公司；酶标仪 Epoch2 购自美国 Bio-Tek 公司。

1.2 甲肝灭活疫苗制备

1.2.1 病毒培养

HAV H2 减毒株 H₂M₂₀K₁₀ 工作种子在冰浴条件下超声粉碎，释放病毒，按 0.5 感染复数接种于培养 4~7 d 的 KMB17 细胞，用含 5% 血清的 MEM 培养基 35 ℃ 培养 9~12 d，更换细胞维持液，继续培养至 22~26 d。收获病毒，于 -20 ℃ 保存。

1.2.2 病毒提取和浓缩

解冻后的病毒收获液在冰浴条件下超声粉碎 3 次，取样检测抗原含量和病毒滴度。超声粉碎结束后，加入等体积的三氯甲烷进行抽提，收集上层水相，再用 6.2 mmol/L 的 PBS 同法抽提蛋白相 4 次。合并抽提后的病毒液，使用膜面积 0.1 m²、截留分子

量 100 kD 的超滤膜进行超滤浓缩。

1.2.3 浓缩液纯化和原液制备

采用层析柱 XK26/50 (填料为 Phenyl Sepharose 6FF) 进行病毒纯化, 上样缓冲液为 1 mol/L 的 PBS, 并用 1、0.02 mol/L 的 PBS 进行梯度洗脱, 收集电导为 30 ~ 40 mS/cm、20 ~ 30 mS/cm、10 ~ 20 mS/cm 和 <10 mS/cm 的 4 个纯化样品, 分别检测抗原和蛋白质含量。合并 4 个纯化样品, 经 0.22 μm 除菌过滤器除菌, 加入稀释度 1:4 000 的甲醛, 在 37 °C 下灭活 12 d, 取样进行病毒灭活验证试验, 合格即为疫苗原液。

1.2.4 试验疫苗制备

根据甘氨酸和氢氧化铝佐剂的终浓度分别为 3 mg/mL 和 0.35 mg/mL, 在容器中分别加入对应体积的甘氨酸、氢氧化铝佐剂和 2 mmol/L 的 PBS 混匀, 调整 pH 值至 6.0~7.0; 加入疫苗原液, 室温搅拌 30 min 混匀, 制备成抗原含量为 1 280 EU/mL 的试验疫苗。试验疫苗用含氢氧化铝佐剂的 2 mmol/L 的 PBS 分别稀释为 80、160、320 和 640 EU/mL, 同时配制抗原含量为 80、160、320、640 和 1 280 EU/mL 的参比疫苗, 4 °C 保存备用。

1.2.5 疫苗检定

按照《中华人民共和国药典》三部 (2020 年版)^[10] 中的甲肝灭活疫苗标准, 对疫苗原液和抗原含量为 1 280 EU/mL 的试验疫苗半成品的各项指标进行检定, 见表 1。采用双抗体夹心酶联免疫吸附法检测抗原含量, 采用比色法检测蛋白质含量, 均按试剂盒说明书操作。病毒灭活验证试验: 取灭活后的病毒液, 接种 KMB17 细胞, 35 °C 培养 21 d, 收获病毒, 同法盲传 2 代, 采用酶联免疫吸附法检测 HAV, 结果呈阴性即为合格。

1.2.6 病毒滴度检测

将超声粉碎后的病毒液进行 10 倍系列稀释, 分别稀释成 10⁻⁶~10⁻⁹, 接种至 KMB17 细胞, 35 °C 培养 24~26 d, 收获病毒, 采用酶联免疫法检测 HAV 病毒滴度。

1.3 动物试验

110 只 NIH 小鼠随机分为 11 组: 试验疫苗、参比疫苗各 5 个剂量组 (80、160、320、640 和 1 280 EU/剂) 和佐剂对照组, 每组 10 只, 雌雄各半。经腹腔注射, 1.0 mL/只, 初次免疫 4 周后眼球毛细血管采血; 二次免疫 4 周后心脏采血。分离血清后, 采用酶联免疫竞争抑制法检测血清 HAV 抗体滴度, 按试剂盒说明书操作。计算 HAV 抗体几何平均

表 1 试验疫苗检定项目与标准

Table 1 Verification items and criteria of the test vaccine

样品	检定项目	质量标准
原液	抗原含量	采用酶联免疫吸附法检测, 应符合批准的要求。
	蛋白质含量	采用比色法检测, 应不高于 100 μg/mL。
	病毒灭活验证	盲传 3 代, 采用酶联免疫吸附法检测 HAV 为阴性。
半成品	铝吸附效果	上清液中抗原含量应不高于吸附前抗原总量的 5%。
	异常毒性检查	动物全部健康存活, 体重增加。
	无菌检查	无细菌、真菌生长。
	铝含量	0.35~0.62 mg/mL。
	游离甲醛含量	应不高于 50 μg/mL。
	pH 值	应为 5.50~7.00。
	细菌内毒素检查	应不高于 10 EU/mL。

注: 表内容来源于《中华人民共和国药典》三部 (2020 年版)^[10]。

滴度 (geometric mean titer, GMT), 并以抗体滴度 ≥ 1:8 判定抗体阳转, 计算 HAV 抗体阳转率。本研究使用的小鼠均按照《中华人民共和国实验动物护理和使用指南》进行处理, 所有方案通过医科院生物所伦理委员会审查 (DWLL202401004)。

1.4 统计分析

采用 SPSS 26.0 软件统计分析。GMT 进行对数转换 (log₂) 后, 服从正态分布且方差齐性, 采用均数±标准差 ($\bar{x} \pm s$) 描述, 组间比较采用单因素方差分析, 进一步两两比较采用 Tukey 检验。组间阳转率的比较采用 χ^2 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 疫苗制备与检定结果

病毒收获液的抗原含量为 5 120 EU/mL, 病毒滴度为 8.33 lgCCID₅₀/mL。HAV 抗原主要集中在 20~40 mS/cm。从 100 mL 蛋白质含量为 2 594.79 μg/mL、抗原含量为 10 240 EU/mL 的病毒浓缩液中获得 530 mL 蛋白质含量为 9.54 μg/mL、抗原含量为 1 280 EU/mL 的疫苗原液, 杂蛋白去除率达 98.05%, 抗原回收率为 66.25%。疫苗原液和抗原含量为 1 280 EU/mL 的试验疫苗半成品各项指标检定结果均符合《中华人民共和国药典》三部 (2020 年版)^[10] 的要求。

2.2 小鼠血清 HAV 抗体水平

二次免疫后, 试验疫苗和参比疫苗各剂量组小鼠血清 HAV 抗体 GMT 较初次免疫平均增加 2 倍以上。同一剂量组内, 试验疫苗和参比疫苗小鼠血清

HAV 抗体 GMT (log₂) 比较, 差异无统计学意义 (均 $P > 0.05$)。试验疫苗不同剂量组小鼠血清 HAV 抗体 GMT (log₂) 比较, 差异有统计学意义 (均 $P < 0.05$); 进一步两两比较显示, 160、320、640、1 280 EU/剂组 HAV 抗体 GMT (log₂) 均高于 80 EU/组 (均

$P < 0.05$), 但这 4 组两两之间差异无统计学意义 (均 $P > 0.05$), 参比疫苗比较结果与试验疫苗一致。佐剂对照组小鼠血清在初次、二次免疫后均未检出 HAV 抗体。见表 2。

表 2 注射不同剂量试验疫苗和参比疫苗小鼠血清 HAV 抗体 GMT (log₂)

Table 2 GMTs (log₂) of serum HAV antibodies in mice injected with different doses of the test vaccine and the reference vaccine

免疫程序	疫苗	HAV 抗体 GMT ($\bar{x} \pm s$)					F 值 ^②	P 值 ^②
		80 EU/剂	160 EU/剂	320 EU/剂	640 EU/剂	1 280 EU/剂		
初次免疫	试验疫苗	3.00±1.83	5.30±2.16	6.70±1.16	6.40±1.26	6.80±1.75	9.032	<0.001
	参比疫苗	2.80±1.99	5.50±2.27	6.50±1.78	6.70±1.34	6.90±1.29	9.159	<0.001
	F 值 ^①	0.055	0.041	0.089	0.266	0.021		
	P 值 ^①	0.817	0.843	0.769	0.613	0.886		
二次免疫	试验疫苗	5.25±1.75	7.37±1.85	8.20±1.40	8.40±0.84	8.50±0.85	8.451	<0.001
	参比疫苗	5.80±1.40	7.50±1.20	8.22±0.83	8.33±0.87	8.44±1.13	9.559	<0.001
	F 值 ^①	0.550	0.026	0.002	0.029	0.015		
	P 值 ^①	0.469	0.875	0.967	0.867	0.904		

注: ①表示同一剂量组不同疫苗比较; ②表示同一疫苗不同剂量组比较。

2.3 小鼠血清 HAV 抗体阳转率

试验疫苗初次免疫, 320 EU/剂及以上剂量组小鼠血清 HAV 抗体阳转率均达到 100.00%, 二次免疫后 160 EU/剂及以上剂量组均达到 100.00%。同一剂量组内, 试验疫苗和参比疫苗小鼠血清 HAV 抗体阳转率差异无统计学意义 (均 $P > 0.05$)。试验疫苗不

同剂量组小鼠初次免疫后血清 HAV 抗体阳转率差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 二次免疫后差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 参比疫苗比较结果与试验疫苗一致。佐剂对照组小鼠在初次免疫和二次免疫后血清 HAV 抗体阳转率均为 0。见表 3。

表 3 注射不同剂量试验疫苗和参比疫苗小鼠血清 HAV 抗体阳转率

Table 3 Positive conversion rates of serum HAV antibodies in mice injected with different doses of the test vaccine and the reference vaccine

免疫程序	疫苗	HAV 抗体阳转率/%					χ^2 值 ^②	P 值 ^②
		80 EU/剂	160 EU/剂	320 EU/剂	640 EU/剂	1 280 EU/剂		
初次免疫	试验疫苗	50.00	80.00	100.00	100.00	100.00	15.947	0.003
	参比疫苗	40.00	80.00	100.00	100.00	100.00	20.238	<0.001
	χ^2 值 ^①	0.202	—	—	—	—		
	P 值 ^①	0.653	—	—	—	—		
二次免疫	试验疫苗	87.50	100.00	100.00	100.00	100.00	4.856	0.302
	参比疫苗	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00		
	χ^2 值 ^①	1.324	—	—	—	—		
	P 值 ^①	0.250	—	—	—	—		

注: ①表示同一剂量组不同疫苗比较; ②表示同一疫苗不同剂量组比较; “—”表示不做统计检验。

3 讨论

本研究采用医科院生物所生产 H2 减毒株冻干甲肝减毒活疫苗的工艺增殖 HAV H2 减毒株, 获得的病毒收获液具有较高的抗原含量和病毒滴度; 同时采

用医科院生物所生产甲肝灭活疫苗的工艺制备 H2 减毒株甲肝灭活疫苗, 获得了纯度较高的疫苗原液 (杂蛋白去除率达 98.05%, 抗原回收率为 66.25%)。不同的是, 疫苗配方中未添加防腐剂 2-苯氧乙醇, 对接种人群更安全^[11-12], 进一步降低了生产过程中的

生物安全风险,且在短期和长期内均不会对疫苗的免疫原性产生不利影响^[13]。目前市售甲肝灭活疫苗成品中铝含量为0.2~1.0 mg/mL^[14],本研究制备的H2减毒株甲肝灭活疫苗的铝含量为0.35 mg/mL,处于《中华人民共和国药典(2020年版)》三部标准(0.35~0.62 mg/mL)的下限。后续研究可适当提高铝佐剂含量,因为较高的佐剂含量可以增强疫苗的免疫原性^[15],但过高会增加注射部位疼痛等不良反应^[16]。

甲肝灭活疫苗可诱导小鼠产生有效的体液免疫应答^[17]。本研究的试验疫苗在初次免疫4周后320 EU/剂及以上剂量组小鼠血清HAV抗体阳转率可达100.00%,在二次免疫4周后160 EU/剂组即可达100.00%,80 EU/剂组从初次免疫后的50%上升到二次免疫的87.50%。在血清HAV抗体水平方面,试验疫苗与参比疫苗各剂量组小鼠二次免疫后的抗体GMT较初次免疫增加。无论是初次免疫还是二次免疫,同一剂量组内试验疫苗与参比疫苗的抗体GMT(log₂)无明显差异。本研究获得的参比疫苗各剂量组小鼠血清HAV抗体水平和阳转率与既往研究结果^[18]基本一致。以上结果均提示利用H2减毒株制备的甲肝灭活疫苗在小鼠体内的免疫原性良好。后续研究需要考察H2减毒株甲肝灭活疫苗的安全性。

在一定范围内,疫苗的免疫效果随着免疫剂量的增加而增加,但当免疫效果进入平台期后,免疫剂量的增加并不会获得更好的免疫效果^[19-21]。本研究结果也验证了这一点:无论初次免疫还是二次免疫,试验疫苗160 EU/剂及以上剂量组小鼠血清HAV抗体GMT(log₂)均高于80 EU/剂组,但160 EU/剂及以上剂量组之间差异无统计学意义。有研究者提出,在不低于最低有效剂量的基础上,应使用尽可能低的疫苗剂量以降低疫苗生产成本,减少不良反应^[22]。参考市售参比疫苗的规格为320 EU/剂(儿童)和640 EU/剂(成人),可考虑H2减毒株甲肝灭活疫苗的免疫剂量为320 EU/剂(儿童)和640 EU/剂(成人)。然而本研究结果来源于小鼠,后续应通过小鼠效力试验对免疫剂量进一步优化,并开展猴体试验进行验证。

综上所述,本研究制备的H2减毒株甲肝灭活疫苗在小鼠体内具有良好的免疫原性,可作为甲肝灭活疫苗的候选疫苗,初步分析其免疫剂量为320 EU/剂(儿童)和640 EU/剂(成人),为后续进一步研发和生产H2减毒株甲肝灭活疫苗奠定了基础。

参考文献

- [1] LIU X L, YANG C L, QU X Q, et al. Vaccination coverage and its determinants of live attenuated hepatitis A vaccine among children aged 24–59 months in 20 rural counties of 10 provinces of China in 2016 [J]. *Hum Vaccin Immunother*, 2020, 16 (7): 1574–1578.
- [2] SU X, ZHENG L, ZHANG H M, et al. Secular trends of acute viral hepatitis incidence and mortality in China, 1990 to 2019 and its prediction to 2030: the global burden of disease study 2019 [J/OL]. *Front Med (Lausanne)*, 2022, 9 [2024-04-17]. <http://doi.org/10.3389/fmed.2022.842088>.
- [3] LUO J, WANG X, MA F, et al. Long-term immunogenicity and immune persistence of live attenuated and inactivated hepatitis A vaccines: a report on additional observations from a phase IV study [J]. *Clin Microbiol Infect*, 2019, 25 (11): 1422–1427.
- [4] 刘建生, 侯宗柳, 马绍辉, 等. 甲型肝炎减毒活疫苗 H2 减毒株 P₂ 区基因序列测定与特征分析 [J]. *中国疫苗和免疫*, 2008, 14 (1): 7–10.
- [5] 黄小琴, 杨净思, 周德久, 等. H2 株甲肝病毒经 KMB17 细胞培养的毒力及核苷酸序列 [J]. *中国生物制品学杂志*, 2000, 13 (3): 133–135.
- [6] 黄小琴, 练幼辉, 王庆龄, 等. 甲型肝炎减毒活疫苗 H2 株在狨猴体内传代的实验 [J]. *中华预防医学杂志*, 1997, 31 (5): 260–262.
- [7] 忻亚娟, 庄防成, 姜立民, 等. 冻干甲型肝炎减毒活疫苗诱导的人体特异性免疫应答 [J]. *中国生物制品学杂志*, 2009, 22 (2): 180–182.
- [8] BAKKER W A, THOMASSEN Y E, VAN T OEVER A G, et al. Inactivated polio vaccine development for technology transfer using attenuated Sabin poliovirus strains to shift from Salk-IPV to Sabin-IPV [J]. *Vaccine*, 2011, 29 (41): 7188–7196.
- [9] 石昊昱, 廖国阳, 车艳春, 等. Sabin 株脊髓灰质炎灭活疫苗的研发及应用进展 [J]. *中国生物制品学杂志*, 2022, 35 (8): 897–906.
- [10] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(2020年版) [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020.
- [11] GEIER D A, JORDAN S K, GEIER M R. The relative toxicity of compounds used as preservatives in vaccines and biologics [J]. *Med Sci Monit*, 2010, 16 (5): 21–27.
- [12] ATWATER A R, PETTY A J, LIU B, et al. Contact dermatitis associated with preservatives: retrospective analysis of North American contact dermatitis group data 1994–2016 [J]. *J Am Acad Dermatol*, 2021, 84 (4): 965–976.
- [13] VAN DAMME P, VON SONNENBURG F, HATZ C, et al. Long-term immunogenicity of preservative-free hepatitis B vaccine formulations in adults [J]. *J Med Virol*, 2009, 81 (10): 1710–1715.
- [14] 刘令九, 岳立广, 徐艳玲, 等. 甲型肝炎灭活疫苗(L-A-1减毒株)的制备及其免疫原性 [J]. *中国生物制品学杂志*, 2015, 28 (1): 6–9.
- [15] WAGNER R, HILDT E. Composition and mode of action of adjuvants in licensed viral vaccines [J]. *Bundesgesundheitsbla*, 2019, 62 (4): 462–471.

(下转第415页)

- [3] 戢汉斌, 李四冬, 巫珺, 等. 棕榈酸帕利哌酮对精神分裂症生活质量、自知力的影响 [J]. 国际精神病学杂志, 2016, 43 (5): 791-793.
- [4] EINARSON T R, MAIA-LOPES S, GOSWAMI P, et al. Economic analysis of paliperidone longacting injectable for chronic schizophrenia in Portugal [J]. J Med Econ, 2016, 19 (9): 913-921.
- [5] PARK E J, AMATYA S, KIM M S, et al. Long-acting injectable formulations of antipsychotic drugs for the treatment of schizophrenia [J]. Arch Pharm Res, 2013, 36 (6): 651-659.
- [6] SAMALIN L, DE CHAZERON I, BLANC O, et al. Attitudes toward antipsychotic medications as a useful feature in exploring medication non-adherence in schizophrenia [J]. Schizophr Res, 2016, 178 (3): 1-5.
- [7] BRISSOS S, VEGUILLA M R, TAYLOR D, et al. The role of long-acting injectable antipsychotics in schizophrenia: a critical appraisal [J]. Ther Adv Psychopharmacol, 2014, 4 (5): 198-219.
- [8] FERVAHA G, TAKEUCHI H, LEE J, et al. Antipsychotics and amotivation [J]. Neuropsychopharmacology, 2015, 40 (6): 1539-1548.
- [9] SUBOTNIK K L, CASAUS L R, VENTURA J, et al. Long-acting injectable risperidone for relapse prevention and control of breakthrough symptoms after a recent first episode of schizophrenia: a randomized clinical trial [J]. JAMA Psychiatry, 2015, 72 (8): 822-829.
- [10] KHOURY A C E, PILON D, MORRISON L, et al. The prospective economic impact of once monthly paliperidone palmitate versus oral atypical antipsychotics in medicaid patients with schizophrenia [J]. Curr Med Res Opin, 2019, 35 (3): 395-405.
- [11] SUETANI S, SISKIND D, PHILLIPOU A, et al. Characteristics of people on long-acting injectable antipsychotics in Australia: data from the 2010 National Survey of High Impact Psychosis [J]. Aust N Z J Psychiatry, 2021, 55 (10): 958-975.
- [12] 葛晓蕾, 何思源, 薛莉莉, 等. 2012—2018年上海市严重精神障碍应急事件特征分析 [J]. 职业卫生与应急救援, 2021, 39 (6): 641-646.
- [13] 江弋舟, 陈春梅, 朱有为, 等. 社区不同性别精神分裂症病例危险行为发生风险预测模型的建立与验证 [J]. 上海预防医学, 2022, 34 (10): 948-954.
- [14] 郝楷荣, 纪家武, 熊端华, 等. 严重精神障碍病例现状及管理调查分析 [J]. 中国卫生标准管理, 2021, 12 (2): 23-25.
- [15] 葛晓蕾, 张伟波, 陈春梅, 等. 棕榈酸帕利哌酮注射液治疗社区精神分裂症病例的效果分析 [J]. 上海预防医学, 2023, 35 (7): 684-688.
- [16] SOUZA A L R, GUIMARAES R A, DE ARAUJO VILELA D, et al. Factors associated with the burden of family caregivers of patients with mental disorders: a cross-sectional study [J]. BMC Psychiatry, 2017, 17 (1): 353-362.
- [17] 聂莲莲, 吴龙辉, 江雁, 等. 精神分裂症病例监护人焦虑情绪的影响因素分析 [J]. 预防医学, 2021, 33 (11): 1166-1169.
- [18] CURTO M, FAZIO F, ULIVIERI M, et al. Improving adherence to pharmacological treatment for schizophrenia: a systematic assessment [J]. Expert Opin Pharmacother, 2021, 22 (9): 1143-1155.
- [19] KISHIMOTO T, HAGI K, KUROKAWA S, et al. Long-acting injectable versus oral antipsychotics for the maintenance treatment of schizophrenia: a systematic review and comparative meta-analysis of randomised, cohort, and pre-post studies [J]. Lancet Psychiat, 2021, 8 (5): 387-404.
- [20] 陈杰, 宋立平, 胡晓华. 棕榈酸帕利哌酮注射剂与利培酮口服液治疗急性期精神分裂症的临床研究 [J]. 中国临床药理学杂志, 2017, 33 (4): 308-311.
- [21] 姜瓔慈, 田吉, 张芬, 等. 精神分裂症病例使用抗精神病长效治疗药物意愿调查分析 [J]. 同济大学学报 (医学版), 2022, 43 (1): 120-124.

收稿日期: 2023-12-21 修回日期: 2024-03-21 本文编辑: 刘婧出

(上接第411页)

- [16] SASAKI E, FURUHATA K, MIZUKAMI T, et al. An investigation and assessment of the muscle damage and inflammation at injection site of aluminum-adsorbed vaccines in guinea pigs [J]. J Toxicol Sci, 2022, 47 (11): 439-451.
- [17] 毛群颖, 钟熙, 马丽颖, 等. 甲肝灭活疫苗在不同品系小鼠中的免疫应答效果 [C] // 中国药学会. 2010年中国药学会暨第十届中国药师周论文集. 天津: 中国药学会; 8438-8442.
- [18] 杨二霞, 李海巍, 封晓菁, 等. 生产场地变更后甲型肝炎灭活疫苗 (人二倍体细胞) 的抗原特性 [J]. 中国生物制品学杂志, 2016, 29 (4): 337-341.
- [19] GONG Q, RUAN M D, NIU M f, et al. Immune efficacy of different immunization doses of divalent combination DNA vaccine pOPRL+pOPRF of *Pseudomonas aeruginosa* [J]. J Vet Med Sci, 2021, 83 (12): 1959-1964.
- [20] RHODES S J, KNIGHT G M, KIRSCHNER D E, et al. Dose finding for new vaccines: the role for immunostimulation/immunodynamic modelling [J]. J Theor Biol, 2019, 465: 51-55.
- [21] JUAN-GINER A, KIMATHI D, GRANTZ K H, et al. Immunogenicity and safety of fractional doses of yellow fever vaccines: a randomised, double-blind, non-inferiority trial [J]. Lancet, 2021, 397 (10269): 119-127.
- [22] KORSÁ M G, DEVLIN J M, HARTLEY C A, et al. Determination of the minimum protective dose of a glycoprotein-G-deficient infectious laryngotracheitis virus vaccine delivered via eye-drop to week-old chickens [J/OL]. PLoS One, 2018, 13 [2024-04-17]. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0207611>.

收稿日期: 2024-02-19 修回日期: 2024-04-17 本文编辑: 徐文璐