

腮腺炎减毒活疫苗生产工艺优化策略

刘川 徐毅飞^{通讯作者}

北京生物制品研究所有限责任公司疫苗一室，北京，100176；

摘要：腮腺炎是由腮腺炎病毒引起的急性传染病，严重时可引发睾丸炎、卵巢炎等并发症，危害患者健康。腮腺炎减毒活疫苗在控制该病的传播和预防方面发挥了重要作用，但随着对疫苗质量要求的不断提升，现有生产工艺面临诸多挑战。本文分析了当前腮腺炎减毒活疫苗生产工艺中的不足，重点关注了细胞培养基质、病毒毒株的改良、工艺控制精度和生产成本等方面的局限。针对以上问题，本文提出要探索新型细胞培养基质，如稳定的永生细胞系，优化病毒毒株的基因工程改造以提高其免疫效价和生产效率，应用生物反应器技术精确调控生产过程中的关键参数，并寻求国产化原辅料的替代，降低生产成本。此外，还重点提出减少动物源性物质的使用，避免由此引发的不良反应。通过优化这些工艺环节来提高疫苗的生产效率、质量和安全性，同时降低生产成本，为腮腺炎减毒活疫苗的生产工艺改进提供理论依据和技术支持。

关键词：腮腺炎减毒活疫苗；原代鸡胚细胞；工艺优化

Optimization of production process of live attenuated mumps vaccine

Liu Chuan Xu Yifei^(Corresponding author)

Beijing Institute of Biological Products Co., LTD., Beijing China, 100176;

Abstract: Mumps is an acute infectious disease caused by mumps virus. When serious, it can cause orchitis, oorchitis, ovariitis and other complications, and harm the health of patients. The attenuated live mumps vaccine has played an important role in controlling the spread and prevention of the disease, but with the continuous improvement of the vaccine quality requirements, the existing production process faces many challenges. This paper analyzes the deficiencies in the current production process of attenuated live vaccine for mumps, focusing on the limitations of cell culture matrix, improvement of virus strain, process control accuracy and production cost. In view of the above problems, this paper proposed to explore new cell culture matrix, such as stable immortal cell lines, optimize the virus strain gene engineering modification to improve the immune titer and production efficiency, the key parameters of bioreactor technology accurately regulate the production process, and seek the replacement of domestic raw materials, reduce the production cost. In addition, it also focuses on reducing the use of animal-derived substances to avoid the resulting adverse reactions. By optimizing these process links to improve the production efficiency, quality and safety of the vaccine, while reducing the production cost, so as to provide theoretical basis and technical support for the production process improvement of the attenuated live mumps vaccine.

Key word: Live attenuated mumps vaccine; primary chicken embryo cells; process optimization

DOI: 10. 69979/3029-2808. 25. 02. 036

腮腺炎是由腮腺炎病毒引起的急性呼吸道传染病，可能引发一些严重并发症，如睾丸炎、卵巢炎等对患者生殖系统造成损害^[1]。腮腺炎减毒活疫苗在全球范围内对控制腮腺炎的传播起了非常重要的作用。然而，随着现代技术的发展以及对疫苗更高质量要求的提出，进一步优化腮腺炎减毒活疫苗的生产工艺具有重要意义^[2]。本文拟总结分析当前生产工艺中的不足并提出相应对策，以期对腮腺炎减毒活疫苗的工艺优化提供参考思路。

1 当前生产工艺的不足

1.1 细胞与毒种的瓶颈

原代鸡胚细胞是传统的培养基质，具有易于获取和成本较低的优势。但鸡胚的个体差异较大，就算来自于同一批次经各种同质化培养条件，其生理状态、代谢水平等仍可能存在差异，这对于病毒繁殖效率和最终疫苗的免疫效价有很大影响。此外，此细胞制备过程中人工操作较繁琐，不易把控质量的稳定性；敞口操作较多，易出现污染的风险；从人道主义角度上，可能存在伦理学考虑^[2]。

国内目前普遍使用的腮腺炎病毒 S79 株是我国于 1

979 年从美国引入的 Jeryl-Lynn 毒株, 但此毒株因历史遗留问题, 为两种腮腺炎病毒的混合物, 在病毒培养工艺中, 病变程度、病毒滴度、收获次数等指标不理想^[3]。近年来腮腺炎发病率下降趋势不理想, 侧面反映出此毒株制备的腮腺炎疫苗可能已不能很好的免疫变异的新毒株。

1.2 细胞工厂工艺的短板

细胞工厂工艺作为一种现代化的细胞培养技术, 相较于传统的转瓶工艺, 的确在生产效率、规模化无菌操作、自动化程度等方面具有显著提升, 尤其适用于大规模细胞培养和病毒生产。然而, 该工艺仍然存在一些不容忽视的局限性, 限制了其在腮腺炎减毒活疫苗生产中的应用潜力。细胞工厂的材质脆弱和成本高昂是其面临的主要问题之一。细胞工厂通常采用聚丙烯 (PP) 或聚碳酸酯 (PC) 等高分子材料制作, 这些材料在一定程度上具有良好的耐腐蚀性和透气性, 但其较高的价格和相对较脆的物理特性导致了生产设备的维护成本较高, 且易受物理冲击或不当操作的损坏。尽管细胞工厂可以提高生产规模和效率, 但其工艺控制精度的不足仍然是一个问题。在细胞工厂中, 培养条件如温度、pH 值、溶氧量和营养物质的供应也影响着细胞的生长及病毒的增殖。然而, 大多数细胞工厂并不能实现对这些参数的实时、动态调节, 这限制了生产过程的精细化控制和优化。而温度、pH 值、溶氧量等参数的微小波动可能导致细胞生长的不均衡, 从而影响病毒的产量和免疫效价。另外, 层数问题也是细胞工厂的一大瓶颈。单层细胞工厂产量有限, 且随着层数的增加, 培养过程中的物质传递效率和氧气供应问题会愈加突出。多层细胞工厂虽然可以增加培养面积, 提升产量, 但其顶部与底部之间的病变程度差异较大, 这意味着, 工艺过程中可能会出现气体、营养物质及代谢废物的分布不均, 导致细胞在不同层之间的生长和病毒增殖状态存在较大差异, 影响了疫苗的生产一致性。

1.3 成本效益面临挑战

因减毒活疫苗本身技术路线较为古老, 试错成本较高, 早年间为保证疫苗的各方面质量, 在疫苗研发生产时往往倾向于选用品质更高、更稳定的进口原辅料或设备, 一旦摸索出较为成熟的工艺, 便不再轻易更替, 盲目更替又极易导致疫苗的重要指标出现不稳定。此外,

受国际市场供求关系、贸易政策、制裁等多重因素的影响, 进口原辅料和设备的价格随时间波动明显, 并且随着全球经济形势的变化, 价格逐年上涨, 给生产成本带来较大压力。某些特定的培养基、酶制剂、病毒保存液等关键的进口材料, 它们不仅具有较长的订货周期, 而且受到国际市场供需关系的影响较大, 一旦发生供货中断或价格大幅上涨, 生产商就可能面临无法及时获得必要物料或被迫接受更高价格的困境。

1.4 不良反应的发生较多

根据国家疾控中心对 2023 年全国预防接种异常反应发布的监测信息概况^[4]显示, 在总报告 5373 例异常反应中, 麻腮风联合疫苗报告了 1802 例, 表明此系列疫苗的安全性有较大的可提升空间。这一问题的主要原因与疫苗生产中使用的动物源性原辅料密切相关。传统的疫苗生产工艺通常依赖于鸡胚细胞等动物来源的培养基, 病毒的减毒、培养和病毒株的稳定性都需要依赖动物源性原材料。然而, 这些动物源性原辅料可能会引入一些不良反应的风险, 如蛋白质残留、内毒素、抗原性物质等, 这些都可能引起个体过敏反应或免疫系统的异常反应。此外, 动物源性原材料本身的质量波动也增加了疫苗的安全隐患; 升级技术路线以应对安全性问题所带来的研发成本和经济效益之间的不对等, 构成了另一个的难题。许多疫苗生产商在面对新的生产技术时, 由于研发和工艺改进需要较长的周期和较高的成本, 往往难以迅速推行新技术, 疫苗生产商不得不权衡技术升级带来的长远效益与短期的资金压力。

2 改进策略

2.1 细胞与毒株的改良

2.1.1 新型细胞基质的应用

传统的原代鸡胚细胞由于存在个体差异性和培养过程中的质量波动, 难以满足高效、稳定生产的需求。因此应该探索稳定的永生细胞系作为替代基质, 这样可以提高病毒产量和培养的可控性。永生细胞系具有快速生长、良好的病毒包容性以及简化的培养条件, 可以有效避免传统细胞培养中的波动问题, 提升生产稳定性。此外, 基因工程技术可用于改造细胞系, 提升其对腮腺炎病毒的适应性和增殖能力, 从而提高疫苗的免疫效价。通过减少动物源性成分的使用, 新型细胞基质不仅提高了生产效率, 还降低了潜在的安全风险, 推动了疫苗生

产的现代化进程。

2.1.2 改良旧毒株或筛选新毒株

通过基因工程技术对腮腺炎病毒株进行精准改造通过对腮腺炎病毒基因组中的关键免疫原性区域进行定向修改,可以增强其在免疫系统中的识别能力,提升疫苗诱导免疫应答的效率。例如,针对病毒表面抗原(如 F 蛋白、HN 蛋白)进行基因突变或优化,以增强其免疫刺激作用来提高疫苗的保护效力。此外,通过调控病毒基因中的某些序列,可以改善病毒的细胞适应性,优化其在细胞培养过程中的复制速度和稳定性,减少病毒生产过程中出现的波动性,也可以提高最终疫苗的产量和一致性。

2.2 生物反应器技术的应用

通过生物反应器培养细胞和病毒,能够更加精准、动态的监测温度、溶氧、pH、乳酸代谢、葡萄糖消耗等指标,并以此判断细胞的生长状态、新陈代谢情况以及病毒的增殖情况,而后据此可将工艺参数动态调控至更狭窄的区间和更加合理化地安排工序^[5]。生物反应器的动态监测和调控功能使得生产过程更加精准,能够在细胞生长和病毒增殖的各个阶段进行实时调整。例如,温度和溶氧的精确控制可以促进细胞代谢水平的提升,减少代谢废物的积累^[6],优化病毒的复制条件;而 pH 的调节则能够避免细胞培养过程中的酸化环境对细胞的抑制作用,进一步提高病毒的生产效率。

2.3 减少引发不良反应的原辅料

为了减少腮腺炎减毒活疫苗生产过程中的不良反应,必须严格筛选原辅料,优先选择无抗生素、非动物源性材料,以降低疫苗中潜在的有害物质残留。传统的疫苗生产工艺常依赖动物源性原辅料,如使用含有抗生素的病毒维持液和血清培养基,这些物质在生产过程中可能引入抗原性杂质,或对人体产生过敏反应,增加不良反应的风险。采用无抗生素的配方来制备病毒维持液,选用无血清的培养基来替代传统血清培养液,能够降低这类风险^[7]。此外,重组胰蛋白酶可以替代传统的猪源性胰蛋白酶,用于细胞消化过程以避免因动物源性蛋白质引发的免疫反应或传染性疾病。在冻干保护剂的选择

上,使用海藻糖替代明胶等动物来源的保护剂也是降低不良反应的有效途径。海藻糖不仅能够提高冻干过程中的稳定性,还具有较低的免疫原性,因此更为安全^[8]。

3 结论

腮腺炎减毒活疫苗生产工艺优化具有重要意义,可提高疫苗的质量、产量和安全性并降低成本。本文通过总结当前生产工艺在细胞与毒种、培养容器、成本效益和不良反应控制方面的不足,并提出改进策略,为改进腮腺炎减毒活疫苗的生产工艺提供参考思路。

参考文献

- [1]陈诗诗,赵国华,何爱华.河南省信阳市实施 2 剂次麻疹风疫苗免疫策略前后流行性腮腺炎的流行病学特征比较[J].现代疾病预防控制,2025,(02):116-119.
- [2]刘辉,孙雅,王刚,等.腮腺炎减毒活疫苗工作代毒种工艺优化[J].中国生物制品学杂志,2018,31(10):1130-1134.
- [3]严有望,张家凯,舒士香,等.S79 株流行性腮腺炎减毒活疫苗的流行病学效果评价[J].中国计划免疫,1998,(03):33-35. DOI:10.19914/j.cjvi.1998.03.011.
- [4]2023 年全国预防接种异常反应监测信息概况[J].中国病毒病杂志,2024,14(06):520.
- [5]武毓姝,孙伟洋,赵梦琳,等.B 型流感疫苗候选株在 MDCK 悬浮细胞上培养工艺优化研究[J].病毒学报,2024,40(02):283-292.
- [6]蒋天华,周庆丰,严专强,等.生物反应器悬浮培养禽偏肺病毒制备弱毒疫苗工艺的优化[J].中国生物制品学杂志,2022,35(03):316-320.
- [7]Ebenig A, Lange M V, Mühlebach M D. Versatility of live-attenuated measles viruses as platform technology for recombinant vaccines[J]. npj Vaccines, 2022, 7(1): 119.
- [8]Andey T, Soni S, Modi S. Conventional vaccination methods: Inactivated and live attenuated vaccines[J]. Advanced Vaccination Technologies for Infectious and Chronic Diseases, 2024: 37-50.