

流感病毒疫苗药学研究及评价技术指导原则
（征求意见稿）

国家药品监督管理局药品审评中心

二〇二六年 七月

目 录

一、前言	1
二、适用范围.....	2
三、基本原则.....	2
四、技术要求.....	8
五、名词解释.....	28
六、参考文献.....	28
七、缩略词列表.....	32

1 一、前言

2 流行性感冒（以下简称流感）是由流感病毒（Influenza
3 virus）引起的急性呼吸道传染病。流感病毒属正粘病毒科
4 （Orthomyxoviridae），基因组为单股、负链、分节段的 RNA。
5 根据病毒核蛋白（Nucleoprotein, NP）和基质蛋白（Matrix
6 protein, MP）的不同，流感病毒可以分为甲、乙、丙、丁四
7 个型别。其中，甲型流感病毒可根据病毒表面蛋白血凝素
8 （Hemagglutinin, HA）和神经氨酸酶（Neuraminidase, NA）
9 蛋白结构及其基因特性，进一步分为 18 个 HA 亚型和 11 个
10 NA 亚型；乙型流感病毒根据 HA 基因型分为 Victoria 系或
11 Yamagata 系。流感病毒易突变，主要变异的方式有抗原漂移
12 （Antigenic Drift）和抗原转变（Antigenic Shift），其中甲型
13 流感病毒对人类威胁最大，不仅可以与乙型流感病毒一样通
14 过抗原漂移造成每年的季节性流感流行，而且会通过抗原转
15 变造成流感大流行。

16 流感在世界各地每年都有不同程度的季节性流行，根据
17 流行程度和规模的不同，流感可分为季节性流感和流感大流
18 行。季节性流感在全球每年可导致大量的重症和呼吸道疾病
19 相关死亡，孕妇、婴幼儿、老年人和慢性基础疾病患者等高
20 危人群，患流感后出现严重疾病和死亡的风险较高。流感大
21 流行通常是由甲型流感病毒引起的全球性流感大暴发，每次

大流行都给全球公共卫生和社会经济带来极大影响。

接种流感病毒疫苗是预防流感的最有效手段之一。为鼓励、规范和指导流感病毒疫苗研发，参照国内外相关技术指导原则要求，基于当前对流感病毒生物学特性的科学认知，结合我国流感病毒疫苗药学研究技术发展情况，针对流感病毒疫苗药学研究与评价制订本指导原则。

二、适用范围

本指导原则基于当前的科学认知，适用范围涵盖不同应用场景（如：季节性流感、流感大流行等）、不同适用人群（如：婴幼儿、成人、老人等）、不同技术路线（如：灭活疫苗、减毒活疫苗、基因工程重组疫苗、核酸疫苗等）、不同制剂类型（如：佐剂疫苗、高剂量疫苗等）的流感病毒疫苗药学研究及技术评价。

三、基本原则

（一）基本考量

本指导原则针对流感病毒疫苗研发中的药学研究提出建议，应考虑不同技术路线的特点、不同目标接种人群的特殊性等，综合确定药学研发策略。流感病毒疫苗的研发应随着技术发展而不断提升研发及质量控制水平，旨在提高疫苗研发的科学性、产品生产及质量控制的一致性、应急供应能力等。研发的方向包括新技术路线、大流行流感病毒疫苗、

43 广谱流感病毒疫苗等。

44 流感病毒疫苗的研发应符合《中华人民共和国药品管理
45 法》、《中华人民共和国疫苗管理法》、《药品注册管理办
46 法》以及现行版《中华人民共和国药典》等相关要求。流感
47 病毒疫苗研发是一个系统的过程，在产品研发不同阶段对产
48 品质量控制依据研发需求会涉及不同的技术考量，建议参考
49 国际人用药品注册技术协调会（International Council for
50 Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals
51 for Human Use, ICH）药品研发相关指导原则，同时参考 WHO、
52 FDA 以及 EMA 等关于流感病毒疫苗研发的相关技术指导原
53 则科学研究。

54 疫苗平台技术在快速推进新发传染病疫苗研发、缩短研
55 发周期及突发公共卫生事件快速响应中具有重要应用价值。
56 在流感病毒疫苗研发与生产中，疫苗平台技术的作用主要体
57 现在毒株更新、大流行流感病毒疫苗的研发等环节。WHO 依
58 据全球监测数据，每年推荐季节性流感候选疫苗病毒，而基
59 于多年流感病毒疫苗生产所积累的生产与质量控制经验知
60 识既是毒株更新生产的基础，同时也能够有效保障毒株更新
61 后疫苗的质量可控性。在大流行流感病毒疫苗研发中，采用
62 “模型株疫苗（Mock-up vaccine）”模式在大流行前（Pre-
63 pandemic）以及大流行间期（Inter-pandemic）开展疫苗研究，

并在流感大流行(**Pandemic**)时快速切换至流行株疫苗生产，亦是疫苗平台技术应用的典型体现，有利于突发公共卫生事件的快速响应及疫苗供应的保证。

对于采用新技术路线开发的流感病毒疫苗，因其药学、非临床及临床研究数据积累有限，需充分评估毒株更换对产品安全性、有效性与质量可控性的影响，应开展毒株年度更新相关研究并积累相应研究数据，还需结合技术进步与行业发展持续优化完善。

（二）季节性流感病毒疫苗

现行版《中华人民共和国药典》已收录的流感全病毒灭活疫苗以及流感病毒裂解疫苗系采用鸡胚生产的季节性流感病毒疫苗，同类产品的研发及生产应满足相关要求。采用新技术路线研发的季节性流感病毒疫苗在参照现行版《中华人民共和国药典》相关要求基础上，应结合不同技术路线特点开展充分的药学研究。此外，根据 WHO 流感病毒疫苗组分咨询委员会的相关建议，流感病毒疫苗应结合近年来全球季节性流感毒株流行形势以确定疫苗组分。

（三）大流行流感病毒疫苗

基于季节性流感病毒疫苗生产工艺开发大流行流感病毒疫苗的关键在于对“模型株疫苗”（**Mock-up vaccine**）开展系统研究。可基于季节性流感病毒疫苗积累的生产、质量

控制先验知识进行“模型株疫苗”的研发，并在大流行前或大流行期间完成“模型株疫苗”药学、非临床以及临床研究，重点验证“模型株疫苗”的免疫原性与安全性。对于研发过程中可能涉及的变更，可借鉴季节性流感病毒疫苗积累的生产工艺、质量控制先验知识，以关键质量属性为依据，验证相应变更对产品质量的潜在影响。在同一技术路线下，建议开展不同“模型株疫苗”的临床免疫原性桥接研究，临床研究相关要求建议参考《流感病毒疫苗临床试验技术指导原则（试行）》；在流感大流行时可采用药学和非临床的研究数据，结合已上市季节性流感病毒疫苗的临床研究数据，以及“模型株疫苗”疫苗安全性和免疫原性的研究数据快速完成毒株替换或疫苗应用。

对于采用新技术路线研发大流行流感病毒疫苗（如：非铝盐类佐剂疫苗、病毒载体疫苗、mRNA 疫苗技术等），需结合新技术路线研发特点开展充分的药学、非临床及临床研究。对于采用相同新技术路线的不同毒株或其序列研发的疫苗，需要开展安全性和免疫原性数据的对比性研究。

（四）以流感为基础的联合疫苗

流感病毒与其他呼吸道病毒存在叠加流行或共同感染流行情况，基于流感病毒疫苗的联合疫苗研发在公共卫生角度存在一定合理性。以流感为基础的联合疫苗的研发，在考

106 考虑联合疫苗研发相同原则及技术要求基础上（如抗原组分相
107 容性、配伍方式等方面），结合流感病毒疫苗特点重点关注
108 以下方面：1、必要性评估：明确其他组分与流感病毒疫苗联
109 合的必要性，相应呼吸道病毒的共流行及共感染情况。2、适
110 用场景评估：因季节性流感病毒疫苗每年更换生产用毒株，
111 应考虑联合疫苗中其他抗原组分是否涉及定期更换毒株。根
112 据其他病原体组分是否更换毒株，应开展相应药学研究以及
113 非临床/临床研究。3、应充分评估并明确联合疫苗的免疫程
114 序以及适用场景、适用人群等。

115 （五）广谱流感病毒疫苗

116 WHO 将广谱流感病毒疫苗列为研发重点，旨在实现更
117 广的跨亚型覆盖范围、提高有效性以及提供长期保护。广谱
118 流感病毒疫苗研发应在综合考察产品的技术路线、对流感病
119 毒广谱理论设计依据等基础上，应重点关注保守抗原靶点的
120 选择与成药性研究。保守抗原靶点的选择和优化可根据广谱
121 理论设计依据及广谱保护性定义等合理选择并设计广谱抗
122 原或表位，应关注保守抗原表位研究与抗原序列设计优化等
123 方面研究的充分性、合理性。产品研发过程中应根据产品特
124 点开展充分的质量特性研究并合理拟定质量标准，建立体内
125 及体外效力检测方法。

126 （六）特殊给药方式、给药装置、给药途径

127 为便于疫苗接种，流感病毒疫苗的研发可采用鼻喷、无
128 针注射器、微针贴片等创新给药方式及给药装置。需依据不
129 同给药方式，统筹考虑疫苗关键质量属性、稀释剂、给药配
130 套组件等开展一体化设计，保证给药系统与疫苗制剂适配性。

131 给药装置方面，应明确给药装置的原理，提供给药装置
132 供应商、规格（产品组成、关键材质等）、质量标准等信息。
133 结合疫苗给药需求，阐述给药装置选择依据、临床应用合理
134 性及疫苗递送效能，系统开展给药装置质量特性研究与质量
135 控制，对于特殊给药装置须符合医疗器械（如有）等方面技
136 术指导原则相关要求。

137 给药装置与药物的相互作用方面关注以下方面，需开展
138 给药装置与流感病毒疫苗制剂的相容性研究，重点考察给药
139 过程中疫苗有效性、纯度、稳定性等关键质量属性的影响，
140 评估给药装置对疫苗产品质量的潜在影响。

141 若给药装置于制剂生产环节完成载药，需识别生产全过
142 程中影响疫苗活性的关键工艺参数，开展工艺验证，建立全
143 过程质量控制策略，保障疫苗活性与产品质量稳定。若给药
144 装置与疫苗制剂为独立包装、接种前临时配伍使用，除分别
145 对疫苗制剂、给药装置开展独立质量控制外，还需系统评价
146 配伍后疫苗即时质量及开启使用过程中的使用稳定性。

四、技术要求

本指导原则对不同技术路线（灭活疫苗、减毒活疫苗、基因工程重组疫苗、mRNA 疫苗）提出相关要求。现行版《中华人民共和国药典》已收录流感全病毒灭活疫苗及流感病毒裂解疫苗，为采用鸡胚生产的季节性流感病毒灭活/裂解疫苗，相关技术要求在灭活疫苗部分进行阐述。其它技术路线研发产品在借鉴灭活疫苗相关技术要求的基础上分别进行阐述。

目前大流行流感病毒疫苗的研发以灭活疫苗为主，基于其他技术路线研发的大流行流感病毒疫苗，相关要求可参考季节性流感病毒疫苗。

（一）灭活疫苗

灭活疫苗技术路线包含采用鸡胚和传代细胞系生产的全病毒灭活疫苗、病毒裂解疫苗和亚单位疫苗。季节性流感病毒灭活疫苗，采用 WHO 推荐的并经国家药品监督管理部门批准的甲型和乙型流感病毒株分别接种鸡胚，经培养、收获病毒液、病毒灭活/病毒裂解、纯化后制成。

1.生产用毒株

季节性流感病毒灭活疫苗，采用 WHO 推荐的流感病毒株，引进后按规定建立主种子批和工作种子批。

鸡胚来源毒种的建库、检定、代次要求应符合现行版《中华人民共和国药典》流感病毒裂解疫苗有关要求。

168 若采用 MDCK 细胞作为流感病毒疫苗生产用细胞基质，
169 建议生产用毒株采用 WHO 推荐的细胞疫苗毒株。若采用鸡
170 胚来源毒株构建毒种库，尽早采用质量监控细胞（Quality
171 Monitoring Cell，QMC）来源的毒株替换鸡胚毒株，并对细
172 胞毒株开展充分的研究，包括毒种制备、质量可比性分析、
173 抗原性对比（two way 试验证明与疫苗组分抗原的一致性）、
174 毒株遗传稳定性等药学研究，依据变更风险综合考虑开展非
175 临床/临床研究。更换 QMC 细胞来源的毒株及对应的标准品
176 时，建议采用定量的方法（如质谱法）进行血凝素含量检测，
177 以确保血凝素含量结果的一致性。

178 生产用毒种应开展规范的传代稳定性研究，传代稳定性
179 研究条件应代表或模拟商业化生产工艺，研究项目一般应包
180 括鉴别、病毒滴度、血凝滴度、外源因子检测、基因测序等，
181 其中不同代次病毒基因如有突变应进行分析，关注基因突变
182 对病毒免疫原性等方面的影响。鼓励开展深度测序用于毒种
183 传代稳定性和外源因子检测，关注方法学优化和验证；制定
184 毒种传代稳定性突变监测方案，包括低频突变的监测和风险
185 评估，积累数据并分析对疫苗安全性和有效性的影响。建议
186 在新建种子批后，开展规范的深度测序研究。

187 大流行流感病毒疫苗毒株研究中，“模型毒株”应考虑选
188 择 WHO 推荐的毒株，见“毒株更新”部分。生产毒株种子

189 批制备和检定可参考季节性流感病毒疫苗中的相关要求。

190 2.细胞基质

191 2.1 鸡胚基质

192 疫苗生产用鸡胚应符合现行版《中华人民共和国药典》
193 有关要求。

194 2.2 MDCK 细胞基质

195 采用 MDCK 细胞生产的流感病毒疫苗，细胞株研发和
196 使用应遵循现行版《中华人民共和国药典》“生物制品生产
197 检定用动物细胞基质制备及质量控制”有关要求。

198 通过基因修饰或无血清驯化等过程筛选获得的细胞用
199 于生产，应说明对细胞进行基因修饰或无血清驯化等的获益
200 并评估相关风险，应提供细胞体外培养过程及细胞系/株建立
201 过程的相关资料，同时还应具有细胞鉴别、内源及外源因子
202 检查结果，安全性反面不得引入活性致癌基因或感染基因，
203 不得引入增强细胞成瘤性及转移瘤等生物表型的操作或试
204 剂。如需对细胞基质进行基因修饰（如：序列增加、删减或
205 替换以提升病毒产量等），应考虑基因修饰的必要性和修饰
206 方法的适用性，修饰过程不应增加额外的安全性风险，修饰
207 基因的选择应尽量避免或降低病毒培养过程发生突变的风
208 险。

209 生产用细胞应重点关注细胞株致瘤性和成瘤性，细胞致

210 瘤性应为阴性。尽可能选择成瘤性弱且无转移瘤或生产限定
211 代次内不产生转移瘤的细胞；具有成瘤性的细胞株，需采用
212 定量方法进一步分析细胞成瘤性的大小，计算细胞的半数致
213 瘤量（TPD₅₀），并根据生产工艺、制品特性和质量控制，评
214 估成瘤性的风险。鼓励采用先进技术手段对细胞异质性（如
215 涉及）、成瘤性、传代稳定性等开展研究。鼓励研发成瘤性
216 阴性细胞用于生产。

217 生产用细胞应开展规范的传代稳定性研究，传代稳定性
218 研究条件应代表或模拟商业化生产工艺，研究项目一般应包
219 括鉴别、外源因子、细胞生长特性、病毒增殖能力、产品关
220 键质量属性等。新建细胞系的传代稳定性研究还需关注随着
221 细胞传代代次增加成瘤性和/或致瘤性风险。经基因修饰建立
222 的细胞系/株的传代稳定性研究还需关注传代过程中基因修
223 饰部分的稳定性，如基因序列、拷贝数、蛋白表达稳定性。
224 根据传代稳定性研究结果制定合理的限传代次，并在实际生
225 产过程中加以限定。

226 2.3 其他传代细胞

227 采用其他传代细胞（如：Vero 细胞），建议参照 MDCK
228 细胞有关技术要求开展研究。

229 3. 生产工艺

230 遵循药品研发相关指导原则基础上，参考已有的灭活疫

231 苗研发与生产先验知识，结合生产工艺研究，根据灭活疫苗
232 生产工艺的特点，建立疫苗生产的工艺流程、工艺步骤、关
233 键工艺参数、工艺过程控制等。

234 采用鸡胚作为培养基质，应选择合适的鸡胚日龄，对病
235 毒接种量、接种滴度、稀释液配方、培养条件（温度、湿度）、
236 培养终点、微生物控制方式等进行研究与优化。应深入理解
237 灭活剂的作用机理，结合产品特性和生产工艺、不同毒株特
238 性等进行综合评估，选择合适的灭活工艺。在灭活过程中，
239 确保疫苗能够灭活并且能最大限度不破坏疫苗活性物质的
240 抗原性（如：HA、NA）。通过病毒灭活动力学（包括病毒
241 灭活速率和灭活曲线）评估灭活效果，设置灭活参数。应采
242 用合理的研究方法（如电镜等）开展病毒裂解关键工艺参数
243 的研究，评估裂解效果，合理设定病毒裂解关键工艺参数。
244 建议关注灭活和裂解工艺对抗原结构、免疫原性等的影响。
245 纯化关键工艺参数研究，应关注抗原回收率、杂质去除率、
246 产品纯度等关键质量属性。通过工艺提高产品有效物质（如
247 HA、NA 等）的含量，并尽可能去除工艺相关杂质（如卵清
248 蛋白等）和产品相关杂质。

249 采用 MDCK 细胞作为培养基质，关键工艺参数研究建
250 议关注以下方面：MDCK 细胞培养工艺方面，应对细胞培养
251 方式进行研究，如悬浮/贴壁培养、含血清/无血清培养等培养

252 方式的研究，依据研究数据合理拟定细胞培养工艺。灭活动
253 力学曲线及病毒灭活验证试验方面，相应研究中的病毒滴度
254 检测应使用与生产基质一致的细胞培养法进行灭活验证，并
255 将鸡胚法作为补充或特定情况下的确认手段；其中，细胞法
256 要考虑培养时间、接种量、取样量等，充分保证检测的敏感
257 度。工艺验证及质量研究方面，建议对关键工艺步骤及中间
258 产品的 MDCK 细胞残留 DNA、残留蛋白含量及去除率进行
259 研究，并对 MDCK 细胞残留 DNA 片段大小进行质量研究。
260 其他工艺相关杂质参照药典相关要求进行质量控制。

261 4.制剂处方

262 4.1 制剂处方开发

263 现行版《中华人民共和国药典》已收录流感全病毒灭活
264 疫苗以及流感病毒裂解疫苗，其中明确半成品配制为根据各
265 单价原液血凝素含量，将各型流感病毒按同一血凝素含量进
266 行半成品配制（血凝素配制量可在 15~18 μg /剂范围内，每年
267 各型别流感病毒株应按同一血凝素含量进行配制）。国外已
268 上市高剂量流感病毒疫苗制剂处方含各型流感病毒株血凝
269 素 60 μg 。

270 产品开发应明确制剂处方中每种组分的作用及含量，提
271 供佐剂、缓冲液、盐浓度、pH 值以及其他辅料的选择依据，
272 关注不同毒株间可能存在的相互干扰对疫苗抗原性与免疫

原性的影响。建议积累毒株更新对生产平台影响的数据，根据临床验证批次、实际的生产经验及数据积累设定半成品配制点的内控标准；原则上，半成品配制点应与关键性临床批次具有可比性。

大流行流感病毒疫苗制剂处方研究需关注不同病毒株有效抗原含量的选择、佐剂种类及含量、配制工艺等方面，在开展充分研究基础上以支持制剂处方的确定。

4.2 佐剂

如产品研发中使用佐剂，相关药学研究建议参照《预防用含铝佐剂疫苗技术指导原则》、《预防用疫苗佐剂药学研究技术指导原则（试行）》等指导原则相关要求开展药学研究。应对疫苗中添加佐剂的必要性进行充分的科学论证，确保佐剂的使用符合疫苗研发和免疫调节的实际需求。

5.质量特性研究及质量标准

5.1 质量特性研究

应依据产品特性对中间产品及成品开展质量特性研究。建议采用先进的分析方法对 HA 抗原特性进行研究，在适宜的工艺阶段对 NA 进行鉴别。建议开展产品纯度研究，对纯度研究中相关物质进行归属分析。由于抗原可能存在聚集体，建议对聚集体的组成、粒径、含量及在稳定性考察中的变化情况进行研究分析，并考虑聚集体对疫苗安全性和免疫原性

294 的影响。

295 应持续开展疫苗体外抗原性和免疫原性分析，并充分考
296 虑流感毒株更新对疫苗免疫原性的影响。

297 对于工艺相关杂质，如卵清蛋白、宿主蛋白、宿主 DNA，
298 以及血清、胰蛋白酶、抗生素、灭活剂、裂解剂等工艺添加
299 物，应进行残留量分析，并结合实际情况将相关杂质纳入过
300 程控制或放行标准。

301 5.2 质量标准

302 采用鸡胚生产的季节性流感病毒疫苗已被现行版《中华
303 人民共和国药典》收录，建议按照现行版《中华人民共和国
304 药典》要求制定质量标准，相关标准限度不得低于药典要求。

305 以传代细胞基质研发的流感灭活疫苗，例如 MDCK 细
306 胞，可参照现行版《中华人民共和国药典》相关质量标准，
307 还应关注此类疫苗研发的相关杂质控制，例如宿主细胞残留
308 蛋白检测、核酸酶(含酶活性)残留检测、宿主细胞残留 DNA
309 检测等。

310 如使用佐剂，应依据佐剂特性设定相关质量标准。

311 5.3 分析方法

312 应参照现行版《中华人民共和国药典》有关要求开展方
313 法适用性验证，对于自建方法应进行充分研究并完成方法学
314 验证。

315 对于 MDCK 细胞基质流感病毒疫苗，应重点关注宿主
316 细胞残留蛋白和残留 DNA 检测。建议对特定生产工艺下的
317 宿主细胞杂蛋白谱进行研究，以确保检测方法及所用试剂检
318 出的杂蛋白系该工艺条件下的特征组分。对于宿主细胞残留
319 DNA 和 DNA 片段大小的方法应对靶标选择依据的合理性进
320 行研究，并参照现行版《中华人民共和国药典》要求完成方
321 法学验证。

322 为提升大流行流感病毒疫苗对于突发事件的响应速度，
323 鼓励开展替代方法相关研究，大流行流感病毒疫苗在 WHO
324 提供标准物质情况下应优先考虑采用通过单向免疫扩散法
325 （Single Radial Immunodiffusion, SRID）进行血凝素含量检
326 测，同时应重点关注血凝素检测的时效性，鼓励开展替代方
327 法进行血凝素含量及鉴别试验。疫苗毒种需进行外源因子检
328 测，紧急情况下进行外源因子测试的时间有限，鼓励根据疫
329 苗工艺的类型进行风险分析，评估是否使用替代方法，替代
330 方法必须经过充分的方法验证。

331 5.4 标准物质

332 目前通过 SRID 定量 HA 是国际公认的确定灭活流感病
333 毒疫苗有效抗原含量的检测方法，SRID 的方法需要特定毒
334 株的标准物质，这些标准物质由 WHO 统一提供。目前，标
335 准物质分为鸡胚基质或细胞基质两个来源。对于基于哺乳动

物细胞培养的流感病毒疫苗，原则上应使用细胞来源的标准物质；若使用鸡胚基质来源的标准物质，应对标准物质适用性开展验证，充分评估其对 HA 含量检测的影响。

6.稳定性

应按照现行版《中华人民共和国药典》及国内外相关指导原则，开展疫苗中间品、单价原液、成品的稳定性研究。稳定性研究过程中应关注关键项目及敏感指标的变化趋势，如：HA 含量、蛋白质含量与 HA 含量比值等，比较分析不同毒株的稳定性趋势。

应通过稳定性研究分析和综合评估，明确原液或成品的敏感条件、降解途径、降解速率等信息，合理设计中间品、单价原液、成品等的贮存条件和有效期。

7.毒株更新

7.1 季节性流感病毒疫苗

季节性流感病毒疫苗生产使用 WHO 推荐的季节性流感病毒疫苗病毒株进行的年度更新，应依据《已上市疫苗药学变更研究技术指导原则（试行）》开展相关研究。

7.2 大流行流感病毒疫苗

当 WHO 或国家有关部门宣布流感大流行时，经国家药品监管部门批准，将大流行间期批准的模型株疫苗更新为大流行匹配毒株。大流行毒株申请资料需包括大流行匹配毒株

357 相关研究数据，可基于“模型株疫苗”研究及先验知识提交
358 符合要求的阶段性的非临床与临床研究结果，并在疫苗上市
359 后应尽快提交其余研究内容。

360 毒株研究应包括毒种库制备、检定、遗传稳定性研究，
361 毒株变更前后可比性研究等。若无法获得有潜在安全性风险
362 物料的相关安全性信息，则应对疫苗的安全性进行严格评估，
363 并根据生产工艺和质量控制特点制定全面的风险控制策略。
364 在未获得参比血清情况下建议开展测序试验对毒种进行鉴
365 定，在获得血清后应使用血凝抑制试验来进行毒种鉴定。

366 毒株更新后应开展必要的生产工艺验证以确认新毒株
367 生产疫苗的质量符合有关要求。应充分开展生产工艺、质量
368 以及稳定性可比性研究以证明毒株更新后具有可比性，确保
369 变更前后疫苗关键质量属性可比，应充分分析出现的任何差
370 异对疫苗安全性和免疫原性的影响。若尚未获得人体免疫原
371 性数据，应至少提供动物的免疫原性数据以支持毒株病毒的
372 变化。

373 在提交大流行毒株变更申请时可能无法获得来自商业
374 批次的完整实时数据，应参考 ICH Q1 指导原则有关要求，
375 对大流行毒株更新前后疫苗的实时及加速稳定性数据进行
376 比较，以支持有效期的确定。

377 (二) 减毒活疫苗

378 1.生产用毒株

379 流感减毒活疫苗 (Live Attenuated Influenza Vaccine ,
380 LAIV)原始病毒种子通常由有资质的实验室负责制备。LAIV
381 生产用原始毒种来源应清晰可追溯, 应使用满足疫苗生产用
382 标准的合格无特定病原体 (Specific Pathogen Free, SPF) 鸡
383 胚制备主种子批和工作种子批。减毒供体毒株的基因稳定性和
384 保留的主要表型特征是非常重要的质量特征, 应在传代稳
385 定研究中重点考察; 此外, 还应证明传代过程中无神经毒力。

386 2.细胞基质

387 生产用鸡胚应为 SPF 鸡胚。若采用传代细胞基质作为生
388 产细胞, 细胞成瘤性应为阴性且不得检出转移瘤, 细胞致瘤
389 性应为阴性。

390 3.生产工艺

391 遵循药品研发相关指导原则基础上, 结合生产工艺研究,
392 根据减毒活疫苗生产工艺的特点, 建立疫苗生产的工艺流程、
393 工艺步骤、关键工艺参数、工艺过程控制等。关注生产工艺
394 对目标产物的回收率, 生产相关杂质以及工艺相关杂质的去
395 除率。

396 4.质量特性研究及质量标准

397 4.1 质量特性研究

398 依据产品特性对中间产品及成品开展质量特性研究。关
399 注病毒颗粒、免疫原性、基因测序、减毒特性研究、杂质残
400 留等方面的质量研究。鼓励采用先进的方法对 HA 抗原特性
401 进行研究。

402 4.2 质量标准

403 应依据产品质量研究、生产工艺特性、减毒活疫苗质量
404 特性合理设定中间产品及成品质量标准，应依据减毒机理开
405 发并建立减毒特性检查方法及相应质量标准。参考同类已上
406 市产品，单一收获液应开展微生物限度检查、病毒滴度检测
407 等；单价原液应开展鉴别试验、病毒滴度、减毒特性检查（包
408 括：温度敏感试验，表型特征检查）、外源病毒因子检查（鸡
409 胚检查法，细胞培养法）、蛋白质含量、卵清蛋白含量、无
410 菌检查、支原体检查、细菌内毒素检查等；半成品应开展无
411 菌检查；成品应开展鉴别试验、外观、pH 值、病毒滴度、无
412 菌检查、细菌内毒素检查、抗生素残留量（如涉及）等。

413 5.稳定性

414 具体要求见“灭活疫苗”相应部分。

415 应按照现行版《中华人民共和国药典》及国内外相关指
416 导原则，开展单一收获物、单价原液、成品的稳定性研究。
417 关注稳定性研究过程中关键项目及敏感指标的变化趋势，如：
418 病毒滴度、减毒特性检查等。

419 6.毒株更新

420 具体要求见“灭活疫苗”相应部分。

421 （三）基因工程重组疫苗

422 1.疫苗生产用毒株或目标抗原选择

423 应依据 WHO 每年公布的针对本年度用于细胞疫苗、重
424 组蛋白疫苗或核酸疫苗生产的流感病毒疫苗组分进行构建。
425 如对 WHO 推荐病毒株核苷酸序列进行优化，应明确优化目
426 的、优化原则，关注核苷酸序列优化后表达产物抗原性、糖
427 基化、纯度等关键质量属性的影响；建议关注核苷酸序列优
428 化对不同年度毒株构建关键质量属性的影响。原则上，病毒
429 抗原氨基酸序列应与 WHO 推荐毒株相应氨基酸序列一致，
430 如需进行氨基酸序列优化应提供充分依据。

431 2.毒种库、生产用细胞的构建及研究

432 毒种库、生产用细胞的构建过程应符合现行版《中华人
433 民共和国药典》有关要求。应避免使用含内源性病毒的细胞
434 进行生产，如采用昆虫细胞/杆状病毒，昆虫细胞应内源病毒
435 阴性（如：弹状病毒、诺达病毒等）。

436 3.生产工艺

437 基因工程重组蛋白疫苗生产工艺相关技术考虑可参照
438 已发布相关重组类生物制品指导原则要求。病毒培养工艺需
439 确定细胞培养、病毒感染、收获工艺的相关参数，如培养时

间、培养温度、细胞密度、病毒感染复数（MOI）、病毒收获时间等，拟定合理的参数范围。纯化工艺需充分考虑重组抗原蛋白的理化特性、目标产物回收率及杂质去除率进行研究，根据研究结果确定工艺步骤和工艺参数。基于产品内/外源病毒因子的风险评估，应在工艺步骤中设立病毒清除/灭活工艺，建议参考 ICH Q5A（R2）的一般原则开展病毒清除/灭活验证研究，验证研究应尽可能将原材料或工艺步骤中可能引入的病毒或同类病毒纳入指示病毒，如杆状病毒等。应根据相关指导原则要求对未加工收获液进行全面检测。

4.制剂处方

应参照“灭活疫苗”相关要求开展制剂处方研究，需关注有效抗原含量的选择、佐剂种类及含量、配制工艺等方面，在开展充分研究基础上以支持制剂处方的确定。

5.质量特性研究及质量标准

5.1 质量特性研究

依据产品特性对中间产品及成品开展质量特性研究。应重点关注流感保护性抗原确证研究，包括基因与序列确证、蛋白质一级结构及蛋白空间结构确证、翻译后修饰等方面研究。应开展流感目标抗原蛋白的表达鉴定、结构确证、HA 聚集体（如适用）、纯度、杂质、免疫原性等方面的考察。纯度研究方面，应重点关注原液中 HA 三聚体的纯度及具体占

461 比情况,应采用适宜的方法对 HA 三聚体或多聚体进行表征,
462 关注聚集体的组成、纯度、占比及稳定性考察中的变化情况。
463 应关注聚集体的批间一致性。

464 5.2 质量标准

465 应依据产品质量研究、生产工艺特性、基因工程重组疫
466 苗质量特性合理设定中间产品及成品质量标准。原液的质量
467 控制应开展鉴别试验、分子量、等电点、肽图、N-端氨基酸
468 序列、蛋白质含量、pH 值、纯度、杂质检测、细菌内毒素检
469 查、无菌检查等;成品应开展外观、装量、可见异物、渗透
470 压摩尔浓度、pH 值、鉴别试验、抗原含量、体内效力试验、
471 细菌内毒素检查、无菌检查、异常毒性检查等。

472 体内效力试验可用于表征基因工程重组流感病毒疫苗
473 动物体内免疫原性,是疫苗关键质量属性之一,建议在早期
474 研发阶段建立体内效力检测方法,不断积累数据并优化检测
475 方法,关注产品批间一致性。

476 如使用佐剂,应依据佐剂特性设定相关质量标准。

477 5.3 分析方法

478 应参照现行版《中华人民共和国药典》有关要求开展方
479 法适用性验证,对于自建方法应进行充分研究并完成方法学
480 验证。应选用两种及以上不同分离原理分析方法开展原液纯
481 度表征及放行检测,鼓励发可用于表征 HA 三聚体或多聚体

的纯度检测方法。鼓励在研发阶段同时开展体内效力和体外效力试验，并开展体内和体外方法的相关性研究。体内效力试验应选择适宜的实验动物模型，建立检测动物血清中和抗体或总抗体的方法，包括中和试验毒株、包被抗原、参比品的研究等，检测方法研发优化过程中应关注毒株替换对检测方法的影响。体外效力应建立适宜的疫苗抗原含量的检测方法，对 SRID 开展充分的适用性研究以及方法学验证。

5.4 疫苗标准品或参考品

应开展 WHO 来源标准物质对于基因工程重组疫苗的适用性验证。

6.稳定性

具体要求见“灭活疫苗”相应部分。关注稳定性研究过程中关键项目及敏感指标的变化趋势，如：体内效力、体外效力等。

7.毒株更新

毒株更新的基本原则请参考“灭活疫苗”。基因工程重组流感病毒疫苗每年抗原序列更新所做检测的项目及标准应不低于 WHO 的相关要求。目标抗原的改造策略不应发生改变。应根据质量回顾数据进行体内/体外效力评价确保变更前后序列在药效学上具有可比性。除序列和序列特异性检测方法以外，制剂处方和质量标准应保持不变，生产工艺应尽

503 量保持一致。

504 早期研发阶段及临床试验实施过程中，还建议积累以下
505 数据以支持上市后毒株更新的安全性及有效性：全面比较不
506 同年度的原液 HA 序列，归纳总结序列突变特征，重点关注
507 糖基化位点，半胱氨酸数量及位点、胰蛋白酶切位点
508 （HA1/HA2）及其附近序列的变化情况，评估突变位点对单
509 体和聚集体的影响，包括形状、尺寸、溶解温度、抗原性等
510 核心指标，从而预测年度变更的可行性和可靠性。建议开展
511 动物免疫原性研究，并与已上市季节性流感病毒疫苗进行比
512 较。建议开展适宜的非临床研究以支持毒株更新研究。

513 （四）mRNA 疫苗

514 mRNA 流感病毒疫苗研发的通用技术要求建议参照《预
515 防用 mRNA 疫苗药学研究技术指导原则（试行）》。

516 1.疫苗生产用毒株或目标抗原选择

517 mRNA 季节性流感病毒疫苗抗原一般应基于 WHO 推荐
518 的病毒株序列进行设计。需明确 mRNA 各类分子元件选择依
519 据，并提供完整的前期研发及优化研究数据，若对目的抗原
520 核酸序列开展密码子优化，需提供具体核酸优化策略及对应
521 的体外表达、mRNA 稳定性等研究数据。若对目的抗原氨基
522 酸序列进行改造或优化（如：HA1/HA2 抗原结构改造、抗原
523 位点突变、融合蛋白构建等），需提供相应依据并对改造前

524 后抗原表达水平、抗原结构完整性和免疫原性等关键指标开
525 展全面对比研究，充分论证抗原改造的合理性与安全性。

526 2.菌种库构建

527 流感 mRNA 菌种建库技术要求应参照《预防用 mRNA
528 疫苗药学研究技术指导原则（试行）》。

529 3.生产工艺

530 流感 mRNA 疫苗生产工艺技术要求应参照《预防用
531 mRNA 疫苗药学研究技术指导原则（试行）》。

532 4.制剂处方

533 流感 mRNA 疫苗制剂处方技术要求应参照《预防用
534 mRNA 疫苗药学研究技术指导原则（试行）》。多价流感
535 mRNA 疫苗包含编码不同流感亚型、谱系抗原的多种
536 mRNA 组分，制剂研发阶段应结合各组分免疫原性特征、体
537 外表达特性及组分间相互作用开展处方配比研究，确保制剂
538 处方设计科学、组分配比稳定可控。

539 5.质量特性研究及质量标准

540 mRNA 流感病毒疫苗质量特性研究及质量标准技术要
541 求应参照《预防用 mRNA 疫苗药学研究技术指导原则（试
542 行）》。

543 产品早期研发阶段应建立体内效力检测方法，不断积累
544 数据并优化检测方法，关注产品批间一致性。鼓励进行体外

545 活性与体内效力相关性研究。体内效力试验应选择适宜的实
546 验动物模型，建立检测动物血清中和抗体或总抗体的方法，
547 包括中和试验毒株、包被抗原、参比品的研究等，检测方法
548 研发优化过程中应关注毒株替换对检测方法的影响。

549 应建立各亚型 mRNA 专属质量控制方法，严格控制各组
550 分含量、比例及均一性，保证成品配比准确、批间质量稳定。

551 6.稳定性

552 流感 mRNA 稳定性研究技术要求应参照《预防用 mRNA
553 疫苗药学研究技术指导原则（试行）》。

554 7.毒株更新

555 毒株更新的基本原则请参考“灭活疫苗”。mRNA 流感每
556 年抗原序列更新所做检测的项目及标准应不低于 WHO 的相
557 关要求。目标抗原的改造策略（如突变序列、融合蛋白序列
558 等）以及与毒株更新无关的序列元件（如 UTR 序列、polyA
559 尾设计等）不应发生改变。应根据质量回顾数据进行体内/体
560 外效力评价确保变更前后序列在药效学上具有可比性。除序
561 列和序列特异性检测方法以外，制剂配方和质量标准应保持
562 不变，生产工艺应尽量保持一致。

563 早期开发阶段及临床试验实施过程中，还建议开展动物
564 免疫原性研究，并与已上市季节性流感疫苗进行比较。建议
565 开展适宜的非临床研究以支持毒株更新研究。

566 五、名词解释

567 抗原漂移 (Antigenic Drift): 甲型流感和乙型流感病毒
568 的 HA 和 NA 基因发生的随机、持续积累的点突变, 逐步改
569 变病毒表面抗原的抗原表位, 使其能够逃避免疫识别, 从而
570 导致反复发生的流行性流感疫情。

571 抗原转变 (Antigenic Shift): 甲型流感病毒不同毒株或
572 者亚型 (如动物亚型与人亚型) 之间发生基因片段重配, 导
573 致血凝素 (HA)、神经氨酸酶 (NA) 出现全新抗原亚型的变
574 异。新病毒因人群普遍缺乏免疫力, 极易引发全球流感大流
575 行。

576 模型株疫苗 (Mock-up vaccine): 含有可能造成大流行
577 的流感病毒毒株的疫苗, “模型株疫苗”的研发通常在大流行
578 前完成。

579 大流行前 (Pre-pandemic): 指流感大流行发生前的阶段,
580 涵盖从人类标本中分离出新亚型流感病毒、出现散发病例,
581 到新亚型病毒实现局限人传人的全过程。

582 大流行间期 (Inter-pandemic): 指两次流感大流行之间的
583 常态阶段, 此阶段尚未出现可引发大流行的新型人流感病
584 毒亚型, 以季节性流感流行为主, 动物源流感病毒对人类的
585 传播风险处于较低水平。

586 流感大流行 (Pandemic): 当一种新型流感病毒出现并

587 在全球范围广泛传播，且人群普遍对该病毒缺乏免疫力时，
588 即形成流感大流行。引发过往大流行的病毒，通常起源于动
589 物流感病毒。

590 候选疫苗毒株（Candidate Vaccine Virus，CVV）：季节
591 性候选疫苗毒株是由 WHO/CHMP 推荐的、适用于季节性疫
592 苗生产的流感毒株。通常来讲，它们由世界卫生组织合作中
593 心（Collaborating Centre，CC）筛选或者改造并全面检定，抗
594 原性与当前流行优势株高度匹配，在鸡胚/MDCK 细胞中高
595 生长滴度、遗传稳定，推荐用于当季流感病毒疫苗生产的标
596 准化种子毒株。

597 质量监控细胞（QMC）：流感病毒疫苗生产中，按照相
598 关指南要求建立了主库、工作库的生产用细胞。该细胞按照
599 现行版《中华人民共和国药典》和 WHO 相关指南完成无菌、
600 外源因子、成瘤性、致瘤性、流感病毒敏感性等全面检定并
601 放行。

602 六、参考文献

603 [1] WHO. WHO Expert Committee on Biological
604 Standardization. Requirements for influenza vaccines
605 (inactivated) [EB/OL]. 2006.
606 [https://www.who.int/publications/m/item/influenza-vaccine-](https://www.who.int/publications/m/item/influenza-vaccine-inactivated-annex-3-trs-no-)
607 [inactivated-annex-3-trs-no-](https://www.who.int/publications/m/item/influenza-vaccine-inactivated-annex-3-trs-no-)

608 927?f_link_type=f_linkinlinenote&flow_extra=eyJkb2NfcG9za
609 XRpb24iOjAsImRvY19pZCI6ImI4ZmUyOWUwZWQ3MjMw
610 NWItNTEzMtBmYzMyZjU2Y2NmZSI6ImlubGluZV9kaXNw
611 bGF5X3Bvc2l0aW9uIjowfQ%3D%3D.

612 [2] WHO. Recommendations to assure the quality, safety and
613 efficacy of influenza vaccines (human, live attenuated) for
614 intranasal administration [EB/OL]. 2013.

615 [https://www.who.int/publications/m/item/influenza-attenuated-](https://www.who.int/publications/m/item/influenza-attenuated-intranasal-administration-annex-4-trs-no-977?f_link_type=f_linkinlinenote&flow_extra=eyJkb2NfaWQiOiIzZjg5MzY1YjEzYmZhYjU4LTAwNTBkNmViODA1YjE5MmUiLCJpbmVfZGlzcGxheV9wb3NpdGlvbil6MCwiZG9jX3Bvc2l0aW9uIjowfQ%3D%3D)
616 [intranasal-administration-annex-4-trs-no-](https://www.who.int/publications/m/item/influenza-attenuated-intranasal-administration-annex-4-trs-no-977?f_link_type=f_linkinlinenote&flow_extra=eyJkb2NfaWQiOiIzZjg5MzY1YjEzYmZhYjU4LTAwNTBkNmViODA1YjE5MmUiLCJpbmVfZGlzcGxheV9wb3NpdGlvbil6MCwiZG9jX3Bvc2l0aW9uIjowfQ%3D%3D)

617 977?f_link_type=f_linkinlinenote&flow_extra=eyJkb2NfaWQi
618 OiIzZjg5MzY1YjEzYmZhYjU4LTAwNTBkNmViODA1YjE5
619 MmUiLCJpbmVfZGlzcGxheV9wb3NpdGlvbil6MCwiZG
620 9jX3Bvc2l0aW9uIjowfQ%3D%3D.

621 [3] 国家药品监督管理局.已上市疫苗药学变更研究技术指导
622 原则（试行）[EB/OL].2024 年 6 月.

623 [https://www.cde.org.cn/main/news/viewInfoCommon/e56700d8](https://www.cde.org.cn/main/news/viewInfoCommon/e56700d8d2aaf1394610b2c47d8c6a5c)
624 [d2aaf1394610b2c47d8c6a5c](https://www.cde.org.cn/main/news/viewInfoCommon/e56700d8d2aaf1394610b2c47d8c6a5c).

625 [4] EMA. Guideline on influenza vaccines: Quality module
626 [EB/OL]. Jun 2015. [https://www.ema.europa.eu/en/influenza-](https://www.ema.europa.eu/en/influenza-vaccines-quality-module-scientific-guideline)
627 [vaccines-quality-module-scientific-guideline](https://www.ema.europa.eu/en/influenza-vaccines-quality-module-scientific-guideline).

628 [5] EMA. Guideline on influenza vaccines – submission and

629 procedural requirements (Rev. 2) [EB/OL]. Mar 2023.
630 [https://www.ema.europa.eu/en/influenza-vaccines-submission-](https://www.ema.europa.eu/en/influenza-vaccines-submission-procedural-requirements-scientific-guideline)
631 [procedural-requirements-scientific-guideline](https://www.ema.europa.eu/en/influenza-vaccines-submission-procedural-requirements-scientific-guideline).
632 [6] 国家药品监督管理局.预防用含铝佐剂疫苗技术指导原则
633 [EB/OL].2019 年 12 月.
634 [https://www.nmpa.gov.cn/directory/web/nmpa/xxgk/ggtg/ypggtg](https://www.nmpa.gov.cn/directory/web/nmpa/xxgk/ggtg/ypggtg/ypqtggtg/20191212145901474.html)
635 [/ypqtggtg/20191212145901474.html](https://www.nmpa.gov.cn/directory/web/nmpa/xxgk/ggtg/ypggtg/ypqtggtg/20191212145901474.html).
636 [7] 国家药品监督管理局.预防用疫苗佐剂药学研究技术指导
637 原则（试行）[EB/OL].2026 年 1 月.
638 [https://www.cde.org.cn/main/news/viewInfoCommon/c21b8114](https://www.cde.org.cn/main/news/viewInfoCommon/c21b81148b9b7908d172f97bf467d133)
639 [8b9b7908d172f97bf467d133](https://www.cde.org.cn/main/news/viewInfoCommon/c21b81148b9b7908d172f97bf467d133).
640 [8] ICH. Q1A(R2) Stability Testing of New Drug Substances
641 and Products [EB/OL]. Feb 2003.
642 <https://www.cde.org.cn/ichWeb/guideIch/toGuideIch/1/0>.
643 [9] 国家药品监督管理局.预防用 mRNA 疫苗药学研究技术
644 指导原则（试行）[EB/OL].2026 年 1 月.
645 <https://www.cde.org.cn/main/news/viewInfoCommon/bf7af1dfe>
646 [d49dafb1e5e709f9b22af8e](https://www.cde.org.cn/main/news/viewInfoCommon/bf7af1dfe).
647 [10] ICH. Q5A(R2) Viral Safety Evaluation of Biotechnology
648 Products Derived from Cell Lines of Human or Animal Origin
649 [EB/OL]. Nov 2023.

650 <https://www.cde.org.cn/ichWeb/guideIch/toGuideIch/1/0>.

651 [11] ICH. Q6B Specifications: Test Procedures and Acceptance

652 Criteria for Biotechnological/Biological Products [EB/OL]. Mar

653 1999. <https://www.cde.org.cn/ichWeb/guideIch/toGuideIch/1/0>.

654 [12] 国家药品监督管理局.流感病毒疫苗临床试验技术指导

655 原则（试行）[EB/OL]. 2026 年 3 月.

656 [https://www.cde.org.cn/main/news/viewInfoCommon/0590b262](https://www.cde.org.cn/main/news/viewInfoCommon/0590b26249d5b29820ff238c3d0c5bd2)

657 [49d5b29820ff238c3d0c5bd2](https://www.cde.org.cn/main/news/viewInfoCommon/0590b26249d5b29820ff238c3d0c5bd2).

658 七、缩略词列表

英文简称	英文	中文全称
NP	Nucleoprotein	病毒核蛋白
MP	Matrix protein	基质蛋白
HA	Hemagglutinin	血凝素
NA	Neuraminidase	神经氨酸酶
CVV	Candidate Vaccine Virus	候选疫苗毒株
ERL	Essential Regulatory Laboratory	核心监管实验室
CC	Collaborating Centre	流感合作中心
MDCK	Madin-Darby Canine Kidney	犬肾细胞
TPD ₅₀	50% Tumor-producing Dose	半数致瘤量
QbD	Quality by Design	质量源于设计
QTPP	Quality Target Product Profile	目标产品质量概况
SRID	Single Radial Immunodiffusion	单向免疫扩散法

LAVI	Live Attenuated Influenza Vaccine	流感减毒活疫苗
SPF	Specific Pathogen Free	无特定病原体
MOI	Multiplicity of Infection	病毒感染复数
LNP	Lipid Nanoparticle	脂质纳米颗粒
QMC	Quality Monitoring Cell	质量监控细胞

659