

ICS 07.080

CCS C 27

T/CAV T/CAS

团 体 标 准

T/CAV 023—2025 T/CAS 1054—2025

季节性流感病毒蛋基疫苗候选代表株筛选

Selection of Egg Based Seasonal Influenza Representative Vaccine Candidate Virus

2025-04-23 发布

2025-04-23 实施

中国疫苗行业协会 中国标准化协会 联合发布

目 次

前 言	II
1 范围	3
2 规范性引用文件	3
3 术语和定义	3
4 缩略语	3
5 疫苗候选代表株基本要求	4
5.1 基本信息	4
5.2 分离培养基质	4
5.3 活性和传代史信息	4
5.4 单一毒株培养物	4
5.5 同源临床样本细胞分离株	4
6 疫苗候选代表株的抗原性	4
6.1 疫苗相似株的抗原性	4
6.2 新变异疫苗候选代表株的抗原性	4
6.3 疫苗候选代表株与同源样本细胞分离株抗原性相似	5
7 疫苗候选代表株基因特性	5
7.1 疫苗相似株基因特性	5
7.2 新变异疫苗候选代表株基因特性	5
7.3 疫苗候选代表株序列单一	5
8 疫苗候选代表株生长特性	5
8.1 HA 滴度	5
8.2 HA 蛋白产量	5
9 疫苗候选代表株筛选原则	5
附 录 A （资料性） 双向血凝抑制试验检测示例	6
附 录 B （规范性） 疫苗候选代表株筛选原则	7
参 考 文 献	8

前 言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

本文件由中国疾病预防控制中心病毒病预防控制所提出。

本文件由中国疫苗行业协会发布归口。

本文件起草单位：中国疾病预防控制中心病毒病预防控制所、中国食品药品检定研究院、湖北省疾病预防控制中心、山东省疾病预防控制中心、广东省疾病预防控制中心、浙江省疾病预防控制中心、四川省疾病预防控制中心、上海市疾病预防控制中心、河南省疾病预防控制中心、安徽省疾病预防控制中心、内蒙古自治区疾病预防控制中心、中国人民解放军空军特色医学中心。

本文件主要起草人：辛丽、王大燕、韩俊、白红岩、黄维娟、唐静、李希妍、黄维金、成艳辉、魏合江、曾晓旭、杨磊、董婕、刘佳、刘侗、刘琳琳、潘明、茅海燕、李柏生、滕峥、雷霞、赵雪、赵升、郭前方、王鹏、孙林、肖宁。

季节性流感病毒蛋基疫苗候选代表株筛选

1 范围

本文件规定了季节性流感病毒蛋基疫苗候选代表株筛选原则，明确了疫苗候选代表株分离培养基和生长特性评价技术细节，细化了抗原性和基因特性的筛选标准。

本文件适用于全国疾控系统公共卫生实验室，指导流感监测实验室相关工作人员开展临床样本的分离培养和鉴定、疫苗候选代表株的筛选和实验室检测工作，规范季节性流感病毒蛋基疫苗候选代表株的筛选标准。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

WS 285 流行性感诊断标准

全国流感监测技术指南

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

疫苗候选代表株 representative vaccine candidate virus

经筛选拟用于制备下一个季节性流感流行季重配疫苗株的野生型亲本毒株，预期为下一流感流行季流行代表株。

3.2

候选疫苗株 candidate vaccine virus

经过基因重配构建、被 WHO 推荐、可用于疫苗企业生产的鸡胚高产重配疫苗株。

3.3

鸡胚分离株 egg propagated virus

临床样本经鸡胚分离培养且能够在鸡胚中持续传代的流感病毒分离株，为野生型毒株。

3.4

细胞分离株 cell propagated virus

临床样本经MDCK细胞分离培养且在细胞中能够持续传代的流感病毒分离株，为野生型毒株。

3.5

HA 滴度 hemagglutination titer

红细胞凝集试验判定的病毒滴度。

3.6

HI 滴度 hemagglutination inhibition titer

血凝抑制试验判定的抗体滴度

4 缩略语

下列缩略语适用于本文件。

HA: 血凝素 (Hemagglutinin)

HI: 血凝抑制 (Hemagglutination Inhibition)

HPLC: 高效液相色谱法 (High Performance Liquid Chromatography)

MDCK: 马丁-达比犬肾 (Madin Darby Canine Kidney)

NA: 神经氨酸酶 (Neuraminidase)

NGS: 下一代测序技术 (Next Generation Sequencing)

Real time RT-PCR: 实时反转录聚合酶链式反应 (Real time Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction)

SPF: 无特定病原体 (Specific Pathogen Free)

WHO: 世界卫生组织 (World Health Organization)

5 疫苗候选代表株基本要求

5.1 基本信息

疫苗候选代表株基本信息完整, 包括但不限于毒株名称、病例流行病学基本信息 (病例发病时间、样本采集时间、现住址、年龄、性别等)、毒株分离培养时间和毒株分离培养实验室信息等。

5.2 分离培养基质

5.2.1 蛋基疫苗候选代表株应采用 SPF 鸡胚作为基质进行毒株培养, 且毒株的分离及后续传代培养均须在 SPF 鸡胚中完成。

5.2.2 病毒分离培养方法参考《全国流感监测技术指南》和 WS 285 流感病毒鸡胚分离培养方法。

5.3 活性和传代史信息

5.3.1 疫苗候选代表株应具有生长、繁殖活性并可持续在 SPF 鸡胚内传代培养, 且传代史明确、可溯源。

5.3.2 在同等 6、7、8 条目条件下, 应选择鸡胚内传代代次较少的毒株作为蛋基疫苗候选代表株。

5.4 单一毒株培养物

5.4.1 疫苗候选代表株应是单一流感毒株培养物, 无外源因子污染, 包括其他亚型/谱系流感病毒或同亚型/谱系中其他毒株的污染。

5.4.2 其他亚型/谱系流感病毒污染, 可通过 Real time RT-PCR 的方法排除, 具体实验方法参考《全国流感监测技术指南》和 WS 285 流感病毒核酸检测; 同亚型/谱系中其他毒株污染, 可通过 NGS 测序排除, 具体实验方法参考《全国流感监测技术指南》流感病毒基因组测序。

5.5 同源临床样本细胞分离株

5.5.1 应存在与蛋基疫苗候选代表株配对的、源自同一份临床样本的 MDCK 细胞分离株, 用于抗原分析和鉴定。

5.5.2 若同源临床样本 MDCK 细胞分离株未能成功分离培养, 且无其他可替代的蛋基疫苗候选代表株, 可选择与该候选代表株抗原性和基因特性相同的细胞分离株作为蛋基疫苗候选代表株的配对毒株, 用于抗原分析和鉴定。

6 疫苗候选代表株的抗原性

6.1 疫苗相似株的抗原性

6.1.1 为提高候选疫苗株产量等目的, 制备疫苗原型毒株抗原性类似的候选疫苗株时, 可选择与疫苗原型毒株抗原性类似的毒株作为疫苗候选代表株。

6.1.2 疫苗相似株与 WHO 推荐的疫苗原型毒株抗原性一致, 即疫苗相似株对疫苗原型毒株免疫雪貂血清的 HI 滴度与疫苗原型毒株自身 HI 滴度一致或仅发生 4 倍及以内降低。

6.2 新变异疫苗候选代表株的抗原性

6.2.1 新变异疫苗候选代表株是潜在的下一季流感疫苗株, 可作为疫苗候选代表株用于候选疫苗株重配。

6.2.2 当新变异疫苗候选代表株与 WHO 推荐的疫苗原型毒株之间存在抗原差异, 即新变异疫苗候选代

表株对疫苗原型毒株免疫雪貂血清的 HI 滴度较疫苗原型毒株自身 HI 滴度降低 8 倍及以上时，可判定该毒株发生了新的抗原变异。

6.3 疫苗候选代表株与同源样本细胞分离株抗原性相似

6.3.1 为了确保疫苗候选代表株在鸡胚传代过程中不发生或较少发生可改变抗原性的突变，疫苗候选代表株应满足同一样本的鸡胚分离株与细胞分离株的双向 HI 滴度差异小于等于 2 倍。双向血凝抑制试验检测结果示例参见附录 A。

6.3.2 在特殊情况下，若无法满足 6.3.1 条目要求（如 H3N2 亚型流感病毒因发生鸡胚适应性突变而改变抗原性），疫苗候选代表株可选择同一样本鸡胚分离株与细胞分离株的双向 HI 滴度差异小于等于 4 倍的毒株。双向 HI 检测结果示例参见附录 A。

7 疫苗候选代表株基因特性

7.1 疫苗相似株基因特性

7.1.1 筛选现有疫苗相似株作为疫苗候选代表株时，除满足 6.1 条目关于疫苗相似株抗原性的要求外，还需要符合相似株基因特性要求。

7.1.2 毒株经过基因测序和进化树分析，结果显示 HA 基因与疫苗原型毒株的 HA 基因位于同一进化分支，且无重要抗原位点的突变。

7.2 新变异疫苗候选代表株基因特性

7.2.1 筛选新变异毒株作为疫苗候选代表株时，需新变异毒株的抗原性和/或基因特性与疫苗原型毒株相异。

7.2.2 毒株经过基因测序和进化树分析，结果显示 HA 基因与疫苗原型毒株的 HA 基因不在同一进化分支，或发生重要抗原位点的突变。

7.3 疫苗候选代表株序列单一

7.3.1 疫苗候选代表株经 NGS 测序的最低覆盖深度不小于 30X，测序结果显示所有基因片段单一无杂合片段，且表面基因 HA 和 NA 上单个位点的碱基变异频率小于 10%。

7.3.2 若发现毒株基因片段存在杂合或表面基因 HA 和 NA 上存在杂合位点，可使用有限稀释试验或空斑试验纯化。

8 疫苗候选代表株生长特性

8.1 HA 滴度

8.1.1 选择合适的红细胞滴定 HA 滴度，HA 滴度应不小于 8。

8.1.2 若有多株鸡胚分离株可供选择，筛选传代培养后 HA 滴度较高的鸡胚分离株作为蛋基疫苗候选代表株。HA 滴定方法参考《全国流感监测技术指南》和 WS 285 红细胞凝集试验。

8.2 HA 蛋白产量

当多株鸡胚分离株 HA 滴度相同时，可使用 HPLC 测定和比较 HA 蛋白的相对产量，筛选 HA 产量较高的毒株作为疫苗候选代表株。

9 疫苗候选代表株筛选原则

基于本标准5-8条目的技术要求，疫苗候选代表株的筛选原则分为必要原则和补充原则，其具体分类及优先顺序详见附录B。依据疫苗候选代表株筛选原则的优先顺序和重要程度，将优先等级分为A、B、C、D、E五个等级。A和B为必要原则，是疫苗候选代表株必须满足的基本要求。C、D、E为补充原则，在多株疫苗候选代表株满足必要原则时，根据补充原则进一步筛选，筛选过程应依据C~D~E的优先等级顺序开展。

附录 A
(资料性)
双向血凝抑制试验检测示例

	病毒A鸡胚分离株免疫雪貂血清	病毒A细胞分离株免疫雪貂血清	病毒B鸡胚分离株免疫雪貂血清	病毒B细胞分离株免疫雪貂血清	病毒C鸡胚分离株免疫雪貂血清	病毒C细胞分离株免疫雪貂血清
病毒A鸡胚分离株	640	640	/	/	/	/
病毒A细胞分离株	320	1280	/	/	/	/
病毒B鸡胚分离株	/	/	640	640	/	/
病毒B细胞分离株	/	/	160	1280	/	/
病毒C鸡胚分离株	/	/	/	/	640	160
病毒C细胞分离株	/	/	/	/	80	1280

结果解读:

病毒A: 使用病毒A鸡胚分离株免疫雪貂血清开展HI检测时, 病毒A鸡胚分离株的HI滴度为640, 病毒A细胞分离株的HI滴度(320)较鸡胚分离株HI滴度发生2倍降低; 使用病毒A细胞分离株免疫雪貂血清开展HI检测时, 病毒A细胞分离株的HI滴度为1280, 病毒A鸡胚分离株的HI滴度(640)较细胞分离株发生2倍降低。此时, 病毒A的双向HI滴度存在2倍差异。

病毒B: 使用病毒B鸡胚分离株免疫雪貂血清开展HI检测时, 病毒B鸡胚分离株的HI滴度为640, 病毒B细胞分离株的HI滴度(160)较鸡胚分离株HI滴度发生4倍降低; 使用病毒B细胞分离株免疫雪貂血清开展HI检测时, 病毒B细胞分离株的HI滴度为1280, 病毒B鸡胚分离株的HI滴度(640)较细胞分离株发生2倍降低。此时, 病毒B的双向HI滴度存在4倍差异。

病毒C: 使用病毒C鸡胚分离株免疫雪貂血清开展HI检测时, 病毒C鸡胚分离株的HI滴度为640, 病毒C细胞分离株的HI滴度(80)较鸡胚分离株HI滴度发生8倍降低; 使用病毒C细胞分离株免疫雪貂血清开展HI检测时, 病毒C细胞分离株的HI滴度为1280, 病毒C鸡胚分离株的HI滴度(160)较细胞分离株发生8倍降低。此时, 病毒C的双向HI滴度存在8倍差异。

附 录 B
(规范性)
疫苗候选代表株筛选原则

优先等级	条目	内容概述	相关说明
A	5.1	基本信息	/
A	5.2	分离培养基质	/
A	5.3.1	活性和传代信息	/
E	5.3.2	传代代次要求	在满足 6、7、8 各项 A、B、C、D 等级的条目下，仍有多株毒株可供选择时，参考此条目筛选
A	5.4	单一毒株培养物	/
C	5.5.1	同源临床样本细胞分离株	首选 5.5.1，如若不能满足，可选 5.5.2
D	5.5.2	非同源临床样本细胞分离株	/
B	6.1	疫苗相似株抗原性	6.1 和 6.2 条目，满足其中任意一条目即可
B	6.2	新变异疫苗候选代表株抗原性	/
C	6.3.1	疫苗候选代表株与同源样本细胞分离株抗原性差异小于 2 倍	首选 6.3.1，若无法满足，可选 6.3.2。
D	6.3.2	疫苗候选代表株与同源样本细胞分离株抗原性差异小于或等于 4 倍	/
B	7.1	疫苗相似株基因特性	7.1 和 7.2，满足其中任意一条目即可
B	7.2	新变异疫苗候选代表株基因特性	/
A	7.3	表面基因无杂合位点	需满足 7.3.1，若无法满足，可以使用 7.3.2 方法进行纯化
C	8.1	HA 滴度	首选 8.1，若无法筛选，可选 8.2
D	8.2	HA 蛋白产量	/

优先等级说明

- A: 必要原则，疫苗候选代表株必须完全满足，无其他替代原则。
 B: 必要原则，有两个条目可供选择，满足其一即可。
 C: 补充原则，在满足 A 和 B 的基础上，可进一步满足 C 的要求。
 D: 补充原则，如果 C 条目要求无法满足，可选择 D 条目替代。
 E: 补充原则，如果 C 和 D 条目要求均无法满足，可选择 E 条目替代。

参 考 文 献

[1] 辛丽, 鲁健, 陈永坤等, 季节性流感疫苗株制备技术平台的建立[J]. 中华实验和临床病毒性杂志, 2015.

[2] 白红岩, 李希妍, 黄维娟等, 甲型 H3N2 亚型流感病毒重配疫苗株产量评估与基因特性研究[J]. 病毒学报, 2020.

[3] World Health Organization. Production and testing of influenza high growth reassortants Procedures agreed by WHO CCs, ERLs, CSL and NYMC [M]. Version 10: World Health Organization, 2012.

[4] GB/T 42066 急性病毒性感染呼吸道样本采集。

[5] WS/T 812-2022 病原微生物菌（毒）种国家标准株评价技术标准。