

世 界 卫 生 组 织

执 行 委 员 会
第一一一届会议
临时议程项目 5.3

EB111/5
2002 年 12 月日

根除天花：销毁储存的天花病毒

秘书处的报告

1. 根据 WHA52.10 号决议建立了世界卫生组织关于天花病毒研究咨询委员会，委员会授权在 2002 年以前暂时保留现存在目前两个地点¹的天花病毒并由世界卫生大会每年进行审查。决议还要求总干事指定一个专家小组决定需要进行的研究，以便就及时销毁储存的天花病毒达成共识。
2. 卫生大会在 WHA55.15 号决议中授权进一步暂时保留现存的活天花病毒，条件是所有经认可的研究均以结果为目标并有时限制。决议要求总干事继续咨询委员会的工作，定期检查研究的成果和结果，并每年通过执行委员会向卫生大会报告研究规划和相关事项的进展。
3. 本文件提供了委员会第四次会议（2002 年 11 月 20 和 21 日于日内瓦）的一份报告，其中审议了自上届会议以来所开展的利用活天花病毒进行研究的进展²。

世界卫生组织关于天花病毒研究咨询委员会的第四次会议

4. 总体来讲，委员会认为去年在批准的使用活天花病毒所进行的研究方面取得了巨大进展，但是，在就销毁保留的天花病毒的日期可能达成共识之前必须开展进一步研究。这项研究应继续在世界卫生组织的主持下进行严密监测和审查，应继续采取措施以确保

¹ 美国佐治亚州亚特兰大市疾病控制和预防中心及俄罗斯联邦新西伯利亚州克尔索沃俄罗斯国家病毒和生物技术研究中心。

² 参阅文件 A55/21，它提供了向卫生大会提交的有关第三次会议的报告。

所有批准的研究均以结果为重点，有时间限制并进行定期审查。

5. 委员会提出下列建议：

- (a) 应改进两个储存点发现临床材料和 **天花病毒** 分离物及脱氧核糖核酸的系统并使之标准化，两个储存点应共享这些系统收集的信息，至少每年一次向世界卫生组织报告；
- (b) 应提供所开展工作中使用的材料记录，以进行检查和审查。应将这项工作产生的活病毒悬浮体量维持在成功完成批准的研究所需的最低限度；
- (c) 可能时，应将有关每个储存点所持材料的来源、生物特性、传代史和其它特点列入清单。世界卫生组织同意从档案记录中寻找信息促进这项工作；
- (d) 没有科学依据进行保留的病毒分离物（特别是美国采集的嵌合体病毒）应在向原提供国通知了这一计划之后销毁；
- (e) 应对其它经证实可靠的临床材料在克隆之前进行脱氧核糖核酸分析；
- (f) 应进一步开展完善人类天花灵长目动物模型的工作，以便促进其更好地用于评价备选疫苗和抗病毒制剂；
- (g) 应立刻召集一个包括有关安全问题专家的技术小组，考虑有关同时处理 **天花病毒** 和其它正痘病毒现有准则的修订；
- (h) 技术小组应该进一步负责结合核苷酸合成技术方面的进展，制定有关克隆的病毒脱氧核糖核酸片段分布以及有关改造其它正痘病毒基因组使其更类似于 **天花病毒** 基因序列的准则；
- (i) 实验室开展的经批准的研究应该撰写年度书面进展报告，以便最终散发给更广泛的学术团体。在可能时，这一研究应发表在公开的同行评审文献中。

6. **两个储存点的天花病毒株。**在俄罗斯采集的 120 个 **天花病毒** 株中，选择了 55 个病毒分离物做进一步的研究，这一研究涉及生存能力、生物特点和基因组分析。迄今为止已经对 39 种分离物进行了研究，其中 29 种具有生存能力。从没有生存能力的分离物中分离出脱氧核糖核酸。对美国采集的 451 种分离物的分析揭示其中的一些是 **猴痘病毒**、**骆驼痘病毒**或由 **天花病毒**与其它正痘病毒再结合产生的嵌合体。已知 229 种分离物的起

源地区和分离年份；选出其中的 50 种在年份和分离地区、传代史和临床信息的基础上开展进一步研究，其中 46 种显示具有生存能力。

7. 委员会同意必须更好地审查两个储存点的病毒分离物，并建议应改进制备详细目录的系统并使之标准化。两个储存点之间应相互交流这类审查信息并以打印和电子形式每年至少一次向世界卫生组织提交。委员会还建议，应提供用于进展中工作的含有病毒的标本记录供检查和审查。

8. 委员会建议，在可行时详细目录应包括有关每个储存点保留材料的起源、生物性质、传代史和其它特点方面的信息，世界卫生组织同意帮助搜寻档案记录，查找有关一些分离物出处方面的信息。委员会进一步建议，应销毁其保留没有科学依据的分离物，特别是美国采集的嵌合体病毒，并应将这项计划通知原提供国。

9. 一些委员会对批准的研究结果产生的活病毒悬浮体的数量表示担心。委员会建议将这一数量控制在根据委员会建议框架内达成共识的成功完成各项研究所需的最低限度。

10. 委员会忆及全球消灭天花证实委员会 1979 年的建议“除天花病毒或白天花病毒外，其它天花病毒的研究工作不得在可能同上述两种病毒发生交叉污染的条件下进行”¹。由于在特定实验中处理天花病毒的要求，例如随后改变了在测定抗病毒活性时同时进行对多倍体正痘病毒的测定，委员会建议召开一个包括安全问题专家在内的技术小组评估安全性问题并发表更新的准则。

11. **天花病毒脱氧核糖酸序列分析。**对各种天花病毒株提取的脱氧核糖核酸进行序列分析的工作已经取得进展，并确定了 10 种完整基因组序列。美国储存点的研究人员计划至少再确定 3 种完整基因组序列。俄罗斯储存点的工作侧重于获得有关有限数量的来自大量分离物易变基因的数据。这项工作导致能够使用各种标准分析序列基因中所含特定基因之间的种系关系。结果清楚地表明，核苷酸变种不能用作具有不同死亡率的疾病暴发所产生的分离物的致病标记。委员会进一步提到，在故意释放天花病毒的情况下，在法医检测中可使用核苷酸序列分析确定病毒株及其来源。

12. 迄今的结果显示从原始分离物和经两次传代之后的相同标本的之间不存在核苷酸序列方面的差异。委员会建议考虑使用经验证的临床材料和未经事先克隆的其它材料进行序列分析。

13. 完成了两种克隆天花病毒完整基因组脱氧核糖核酸片段经验证和鉴定的材料，已计

¹ 全球根除天花：全球消灭天花证实委员会的最终报告，日内瓦，1979 年 12 月。日内瓦，世界卫生组织，1980 年。（建议 15）。

划利用其它 5 种病毒株开展类似的工作。委员会承认，这项工作将为长期保存 *天花病毒* 基因组提供材料，但是对于该项程序是否能够忠实地代表一个病毒株内的变异性表示质疑。

14. **以聚合酶连锁反应为基础的正痘病毒脱氧核糖核酸分析。**俄罗斯组已开始了聚合酶连锁反应分析 (PCR) 并将限制酵素片段长度多型性扩展至 24 种细胞培养分离物和 8 种痂物质标本上，目的是利用这些程序确定不同病毒株、分离物或依靠基因的微观不均一性的特点。这项工作从相同的疾病暴发揭示了分离物之间惊人的差异。美国组开展了类似的工作，使用限制酵素片段长度多态性毛细电泳作为凝胶电泳技术的替代。

15. **以聚合酶连锁反应为基础的诊断测定。**发展了特别为检测含有准确脱氧核糖核酸含量标本中 *天花病毒* 的聚合酶连反应的各种技术。一项受到广泛评价的程序可将 *天花病毒* 从传染人类的其它正痘病毒及产生于类似天花皮疹的其它传播物质进行区分。这项程序被认为对测定 50 份在感染前驱阶段所获标本中的 *天花病毒* 基因组具有充分的敏感性。

16. 委员会鼓励尽可能与国际社会交流新的以聚合酶连锁反应为基础的检测方法的详情，但是指出，由于要遵守目前有关提供这一材料的准则，不可能获得克隆 *天花病毒* 脱氧核糖核酸短片段，因此批准在两个机构之外使用这种技术可能出现的问题。委员会建议拟议的技术小组 (见 5(g) 或 (h) 段) 应负责结合与核苷酸合成相关的技术方面所取得的进展制定适宜的准则。

17. **血清测定。**包括生产 *天花病毒* 特异性单克隆抗体问题的几种困难阻碍着发展测定 *天花病毒* 抗原的敏感方法。委员会认为，血清测定的敏感性不可能接近聚合酶连锁反应方法的敏感性，并得出结论，血清测定对早期诊断 *天花病毒* 感染不会起什么作用。

18. **动物模型。**实验已显示在高剂量服用时，*天花病毒* 株能够使猕猴产生致死的感染。使用较低剂量可稍微延长症状的发作，从而提供了一种检测备选疫苗和抗病毒制剂的可能更加有用的模型。然而，在这些动物中诱发病症所需的高剂量导致绕过前驱阶段而直接发生病毒血症，使被感染动物不可避免地死于类似出血性天花的疾病。由于这些原因，委员会认为，这一模型不够理想，需要做进一步的工作改进它在评估备选疫苗和药物方面的实用性。

19. **抗病毒药物开发。**委员会注意到公立机构和私营公司均作出巨大努力确定一种对 *天花病毒* 有效的化合物。俄罗斯储存点已经筛选了 2432 种抑制病毒活性的化合物，并确定了 6 种进一步在动物模型中进行检测的新化合物。在大不列颠及北爱尔兰联合王国 (将在美国机构中开展有希望的首选药物的检测) 和美利坚合众国正在进行类似药物的开发

研究，目前已经确定了具有前景性质的总共 40 种主要化合物。

20. 在目前的灵长目类动物模型中，在感染的 24 小时之前服用西多服韦(cidofovir)可受到保护，但是在感染的 12 小时之内服药则不能获得保护。引起疾病所需要的激发强度可能能够解释这些结果。在老鼠中使用牛天花病毒和牛痘病毒的实验数据表明，西多服韦的有效性绝对取决于激发病毒的剂量，以及只有在使用低剂量诱发感染时才能对感染后产生保护。

21. 委员会提到，西多服韦不是一种理想的药物，因为它对肾脏有毒害而且服用后不经肠道，因此欢迎开展 3 种口服西多服韦的前驱衍生药物的研究。在老鼠中进行的抗牛天花病毒感染的结果显示，与西多服韦相比较，这些药物具有较低的毒性和较高的血浆浓度。然而，在 6 个月之内将不会开展在灵长目动物模型中的天花实验。

22. **疫苗开发。**委员会讨论了四项疫苗开发规划。联合王国进行的目的在于开发第二代亚单位疫苗的工作仍处于确定适宜的保护性抗原阶段。在联合王国和美利坚合众国开展的工作评估一种作为减活备选疫苗的安卡纳病毒改造疫苗。美利坚合众国利用四种抗原的序列编码开发脱氧核糖核酸疫苗的研究正处于初期阶段。

23. **一般性讨论。**关于被动免疫治疗，委员会提到缺乏强有力的证据支持使用牛痘免疫球蛋白的益处。然而，开展了一些工作，培养能够产生人牛痘免疫球蛋白的转基因动物。

24. 在讨论安全性问题时，委员会考虑了可能分配天花病毒脱氧核糖核酸短片段用于验证聚合酶连锁反应的诊断程序，天花病毒脱氧核糖核酸基因定位突变法使其更类似于天花病毒的基因，将外来基因插入天花病毒，以及同时使用天花病毒和其它正痘病毒。委员会提出，尽管现行准则排除这类工作，但是自从准则公布之后所取得的巨大技术发展可能会改变它的相关性。然而，委员会认为它缺乏解决这些重大问题的专门知识并建议立即召开一个具有相应知识的技术小组审议这些问题并向世界卫生组织提供指南。

25. 总体来说，委员会对使用天花病毒的研究方面取得的巨大进展表示欢心鼓舞，并建议应继续这项工作。要求开展经批准研究的实验室每年撰写年度书面报告并最终散发给更加广泛的学术团体。委员会进一步建议，所有研究应在公开的同行审议文献中公布。

执行委员会的行动

26. 请执行委员会注意本报告。