



## 根除天花：暂时保留储存的天花病毒

### 秘书处的报告

#### 前言

1. 1999年5月卫生大会以WHA52.10号决议决定批准，至迟于2002年前，暂时保留目前储存在各储存点的天花病毒<sup>1</sup>，以便进一步推动国际研究，大会要求总干事指定一个新的专家小组，它将确定如果开展研究，应开展何种研究，以便就销毁现存天花病毒的时间达成一致意见。
2. 根据该决议，指定了一个新的专家小组；该世界卫生组织天花病毒研究咨询委员会由来自世界卫生组织所有区域的16名委员组成。在其第一次会议（1999年12月6 – 9日于日内瓦）上，来自基础和应用研究与管理机构的10名顾问也出席了会议。委员会同意，应建立一个学术小组委员会，以便监督关于天花病毒的未来研究，该小组委员会成员从天花病毒研究咨询委员会中产生。2000年5月向执行委员会第一〇六届会议提交了一份详细报告<sup>2</sup>。委员会的建议是，有正当的理由利用储存的天花病毒开展进一步的有限研究，但是在任何情况下都不应超过2002年底。

#### 世界卫生组织天花病毒研究咨询委员会会议（2001年2月15 – 16日于日内瓦）

3. 会议的主要目的是：
  - 审查就商定的天花病毒研究规划取得的进展；

---

<sup>1</sup> 美国佐治亚州亚特兰大市疾病控制和预防中心的世界卫生组织天花及其它痘病毒感染合作中心；俄罗斯联邦新西伯利亚州科尔索沃国家病毒和生物技术研究中心“VECTOR”的世界卫生组织正痘病毒诊断及天花病毒株和脱氧核糖核酸储存合作中心。

<sup>2</sup> 文件EB106/3。

- 确定这一进展是否足以适应计划的2002年销毁日期；
- 查明目前研究规划中任何重大差距；以及
- 酌情就其它可能的研究方向提供咨询。

4. 委员会的结论是，在天花病毒研究的若干方面已取得相当的进展：毒株采集标本的状况和病毒分离物的生存能力，系统发育分析，正痘病毒脱氧核糖核酸的检测和区分，天花病毒脱氧核糖核酸的核苷酸序列分析，天花病毒的血清检测，抗病毒剂以及天花的动物模型。

5. 毒株采集标本的状况和病毒分离物的生存能力。疾病控制和预防中心持有从若干不同国家标本中衍生的451种病毒分离物。其中大多数是天花病毒分离物，并且已建立数据库将其与可获得的诊断和流行病学数据相联系。在根据已进一步分析的地域、分离年份和低传代史选择的49种毒株中，有45种显示具有生存能力。这些分离物来自亚洲（21）、非洲（16）、欧洲（5）、南美洲（2）和北美洲（1）。许多显示相同的空斑形态和在组织培养中发育至高效价。在45种有生存能力的分离物中，37种来自体外培养物质，其余分离物来自痂（非传代）样本。

6. 俄罗斯中心VECTOR目前持有的样本是于1950年代中期开始在莫斯科收集的。由于在支持根除天花规划的诊断研究期间从当时在莫斯科的世界卫生组织天花合作中心获得的分离物，扩大了标本。目前的采集标本包括原始物质（痂）、冷冻液体培养物和冻干样本。并不是所有的样本都经过生存能力的测试。5种原始痂分离物、9种冷冻培养物中的4种 and 所有6种冻干毒株均具有可表明的生存能力。在获得对进一步工作的支持方面遇到了困难，但是现在期望提供资金。

7. 两个合作中心的工作人员之间已开始合作，以便确保今后关于病毒特性的任何工作，包括转让试剂，得到充分协调。

8. 委员会的结论是，可能需要开展额外工作以评估VECTOR储存的病毒的生存能力，并且其它毒株的进一步分子特性表达可能是宝贵的，有助于查明可确定脱氧核糖核酸进一步序列的毒株。

9. 利用脱氧核糖核酸扩大技术的系统发育分析。对以聚合酶连锁反应为基础的若干技术作了描述，以促进天花病毒分离物的特性表达和系统发育分析。这些包括由各种引物扩大的聚合酶连锁反应产物的限制性片段长度多态性，以及多重聚合酶连锁反应分析。作为一般规则，与中心保存的基因组区域中序列补充的引物用于比较所有正痘

病毒，而与位于基因组末端的序列补充的引物则用于提供种和株特异性数据。委员会的结论是，在将聚合酶连锁反应技术应用于调查正痘病毒特别是天花病毒之间系统发育关系方面已取得重要进展。

10. **正痘病毒脱氧核糖核酸的检测和区分。**对利用脱氧核糖核酸扩大技术的若干方法作了描述，以检测和随后诊断正痘病毒感染。这项工作的一个重要目标是实时鉴定天花病毒。采用的基本程序与已描述的用于不同天花病毒分离物系统发育分析的程序相似。正痘病毒株和各个天花病毒株的检测和区分普遍涉及从基因组保存的和易变的区域产生聚合酶连锁反应扩大的产物。不同小组已为检测扩大的脱氧核糖核酸产物这一过程开发各种平台。

11. 委员会注意到在这一领域的巨大进展。虽然对这些程序的一个主要限制是获得最初脱氧核糖核酸样本所使用的方法，但是将可利用一些作为商品可得试剂的可靠和快速程序。委员会还注意到，这些程序的特异性完全取决于用于扩大的引物的序列。以前被认为是天花病毒特有的牛痘中核苷酸序列的检测强调了一点，即使用单一位点进行聚合酶连锁反应扩大不足以提供明确的鉴定。委员会委员们对快速分析程序必要性提出了疑问。在受感染个体的临床管理相同时，这些快速分析程序的敏感性足以在天花亚种之间进行区分。委员会认识到，在紧急公共卫生情况下需要实时检测任何正痘病毒存在或缺乏的能力。

12. **天花病毒脱氧核糖核酸的核苷酸序列分析。**委员会获知，现可获得3个完整天花病毒基因组的核苷酸序列。还已确定另外3种天花病毒株 – 刚果70、索马里77和印度7124 – 基因组的实质部分。对天花病毒已知最近的亲属骆驼痘病毒的全部序列作了描述。还可获得各种其它正痘病毒各个基因的许多序列数据。

13. 迄今获得的数据已证实怀疑的正痘病毒之间的进化关系并已促进将各种天花分离物进一步分类为亚种。到2002年底，应可获得至少6种完整天花病毒基因组序列。还有可能获得来自未经体外传代的痂物质的序列信息。委员会的结论是，在分析天花病毒基因组的序列方面已取得非常好的进展。

14. **天花病毒的血清检测。**就在酶联免疫吸附测定中对牛痘病毒蛋白采用单克隆和多克隆抗体以检测正痘病毒的工作进行了描述。这类试验可利用这些试剂检测各种正痘病毒，包括骆驼痘、牛痘、猴痘、牛痘和天花病毒。检测不同病毒的相对敏感性是不同的，并且不可能用这种方法对病毒株进行区分。正在开展工作以确定利用这些试剂的测试是否能区分活天花病毒大株和小株。

15. 委员会的结论是，在这一领域正在开展许多有益的工作，并且重要的是对任何产生的单克隆抗体结合它们所反应的天花蛋白彻底表达特性。

16. **抗病毒剂。**Cidofovir抑制一系列广泛的脱氧核糖核酸病毒，包括正痘病毒。其作用机制是通过选择性抑制病毒性脱氧核糖核酸聚合酶。对抗病毒活性的体外试验显示，Cidofovir抑制牛痘以及35种不同的天花病毒分离物。每种分离物对该药具有相同的敏感性，并且诱发抗药性突变似乎不是一个问题。因此，在储存的天花病毒销毁之后，可将其它正痘病毒发展为抗病毒药物试验的替代模型。委员会注意到已取得相当的进展。

17. **天花的动物模型。**已就猕猴喷雾感染天花病毒Yamada株和Lee株完成大部分工作。受感染动物在感染后6天出现临床征兆。临床疾病明显，并且动物产生血清转化，但是没有死亡。委员会的结论是，这一模型不适合于评估新的疫苗或药物的效验。预期将对天花病毒各种毒株和不同的灵长类物种开展进一步工作，包括一个与VECTOR的科学家利用狒狒作为动物模型的可能合作项目。

18. 委员会的结论是，进展是令人满意的，但是速度缓慢。它注意到关于狒狒感染的拟议工作，但表示可能需要额外工作以确定替代模型和进一步表达其特性，以便与天花病毒感染的模型相比较，从而能为药物和疫苗评估确定一个经证实有效的系统。

19. 委员会计划于2001年底举行另一次会议，其建议将提交给2002年1月执行委员会第一〇九届会议。

### 卫生大会的行动

20. 请卫生大会注意本报告。

= = =