



## **Eradication de la variole : maintien temporaire des stocks de virus variolique**

### **Rapport du Secrétariat**

#### **INTRODUCTION**

1. En mai 1999, l'Assemblée de la Santé a décidé, dans sa résolution WHA52.10, d'autoriser le maintien temporaire, mais au plus tard jusqu'en 2002, des stocks existants de virus variolique dans les sites actuels<sup>1</sup> pour permettre la poursuite des travaux de recherche internationaux. L'Assemblée a prié le Directeur général de nommer un nouveau groupe d'experts chargé de décider des recherches à effectuer, le cas échéant, pour parvenir à un consensus sur la date de destruction des stocks existants de virus variolique.

2. Conformément à cette résolution, un nouveau groupe d'experts – le Comité consultatif OMS de la Recherche sur le Virus variolique – composé de 16 membres de différents pays représentant toutes les Régions de l'OMS, a été désigné. A sa première réunion (Genève, 6-9 décembre 1999), à laquelle ont également assisté 10 conseillers représentant des instituts de recherche fondamentale et appliquée et des organismes de réglementation, le Comité est convenu de la nécessité d'établir un sous-comité scientifique chargé de superviser la recherche future sur le virus variolique, et dont les membres feraient partie du Comité consultatif OMS de la Recherche sur le Virus variolique. Un rapport détaillé a été présenté au Conseil exécutif à sa cent sixième session en mai 2000.<sup>2</sup> Dans ses recommandations, le Comité a estimé que de nouvelles recherches d'ampleur limitée réalisées à partir des stocks de virus variolique pouvaient se justifier, mais qu'elles ne devraient en aucun cas se prolonger au-delà de la fin de l'année 2002.

#### **REUNION DU COMITE CONSULTATIF OMS DE LA RECHERCHE SUR LE VIRUS VARIOLIQUE (GENEVE, 15-16 FEVRIER 2001)**

3. La réunion avait pour buts principaux :

- d'examiner l'état d'avancement des programmes agréés de recherche sur les virus varioliques ;

---

<sup>1</sup> Centre collaborateur de l'OMS pour la variole et les autres orthopoxviroses, Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, Géorgie, Etats-Unis d'Amérique ; centre collaborateur de l'OMS pour le diagnostic des orthopoxviroses et Conservatoire des Souches et de l'ADN du Virus variolique ; Centre de Recherche de l'Etat sur la Virologie et la Biotechnologie « VECTOR », Koltsovo, région de Novossibirsk, Fédération de Russie.

<sup>2</sup> Document EB106/3.

- de déterminer si les progrès réalisés sont suffisants pour que la date prévue de destruction des stocks en 2002 soit respectée ;
- d'identifier toute lacune significative du programme actuel de recherche ; et
- de conseiller, le cas échéant, d'autres orientations possibles de recherche.

4. Le Comité a conclu que des progrès considérables avaient été réalisés dans plusieurs domaines de la recherche sur le virus variolique : état des collections de souches et viabilité des isolats viraux, analyse phylogénétique, détection et différenciation de l'ADN d'orthopoxvirus, analyse de la séquence nucléotidique de l'ADN du virus variolique, détection sérologique du virus variolique, médicaments antiviraux et modèles animaux.

5. **Etat des collections de souches et viabilité des isolats viraux.** Les Centres de Lutte contre la Maladie détiennent 451 isolats viraux dérivés de différentes collections nationales. La plupart sont des isolats de virus variolique et une base de données a été créée afin de les relier aux données diagnostiques et épidémiologiques disponibles. Sur 49 souches soumises à une analyse plus poussée et choisies en fonction de leur origine géographique, de leur année d'isolement et de leur faible nombre de passages, 45 ont été trouvées viables. Ces isolats provenaient d'Asie (21), d'Afrique (16), d'Europe (5), d'Amérique du Sud (2) et d'Amérique du Nord (1). Nombre d'entre eux présentaient une morphologie des plages uniforme et atteignaient un titre élevé en culture tissulaire. Sur les 45 isolats viables, 37 provenaient d'un matériel cultivé *in vitro* et les autres de prélèvements de croûtes cicatricielles n'ayant subi aucun passage.

6. Les échantillons actuellement détenus au Centre russe VECTOR ont commencé à être rassemblés à Moscou vers le milieu des années 50. Cette collection a été complétée par des isolats obtenus, au cours des études diagnostiques réalisées dans le cadre du programme d'éradication de la variole, par le laboratoire qui était à l'époque le centre collaborateur de l'OMS pour la variole à Moscou. La collection actuelle comprend du matériel primaire (croûtes cicatricielles), des cultures conservées à l'état congelé et des échantillons lyophilisés. Tous les échantillons n'ont pas fait l'objet d'une épreuve de viabilité ; cinq isolats primaires, quatre des neuf cultures congelées et l'ensemble des six souches lyophilisées présentent une viabilité démontrable. Le Centre a rencontré des difficultés pour obtenir un soutien à la poursuite de ses travaux, mais un financement est maintenant prévu.

7. Une coopération entre le personnel des deux centres collaborateurs a débuté dans le but d'assurer une coordination convenable de tous les travaux futurs sur la caractérisation du virus, y compris le transfert des réactifs.

8. Le Comité a conclu qu'il pouvait être nécessaire d'entreprendre des travaux supplémentaires pour évaluer la viabilité des stocks détenus au Centre VECTOR, et qu'une caractérisation moléculaire plus poussée de nouvelles souches pouvait être utile pour aider à identifier les souches pour lesquelles de nouvelles séquences d'ADN pourraient être déterminées.

9. **Analyse phylogénétique au moyen de technologies d'amplification de l'ADN.** Plusieurs techniques basées sur l'amplification génique (PCR) pour faciliter la caractérisation et l'analyse phylogénétique des isolats de virus variolique ont été décrites. Il s'agit du polymorphisme de longueur des fragments de restriction des produits de la PCR amplifiés au moyen de diverses amorces, et de l'analyse PCR multiplex. En règle générale, on a utilisé des amorces complémentaires des séquences de la région centrale conservée du génome pour comparer l'ensemble des orthopoxvirus et des amorces complémentaires des séquences situées vers les parties terminales du génome pour obtenir des données

spécifiques d'espèce et de souche. Le Comité a conclu que des progrès notables avaient été réalisés lors de l'application de la technologie PCR à l'investigation des relations phylogénétiques entre orthopoxvirus, en particulier entre virus varioliques.

10. **Détection et différenciation de l'ADN d'orthopoxvirus.** Plusieurs méthodes faisant appel aux technologies d'amplification de l'ADN ont été décrites pour la détection et le diagnostic ultérieur des infections à orthopoxvirus. L'un des objectifs majeurs de ces travaux est l'identification des virus varioliques en temps réel. Les procédures de base sont similaires à celles déjà décrites pour l'analyse phylogénétique des différents isolats de virus variolique. La détection et la différenciation des souches d'orthopoxvirus et des souches individuelles de virus variolique comportent généralement l'obtention de produits amplifiés par PCR à partir des régions conservées et variables du génome. Différents groupes ont élaboré des plates-formes pour les procédures de détection de l'ADN amplifié.

11. Le Comité a pris note des progrès énormes réalisés dans ce domaine. Bien que ces procédures soient considérablement limitées par les méthodes utilisées à l'origine pour obtenir les échantillons d'ADN, des procédures fiables et rapides faisant appel à des réactifs du commerce deviennent maintenant utilisables. Le Comité a également noté que la spécificité des procédures dépendait entièrement de la séquence des amorces utilisées pour l'amplification. La détection, dans le virus du cowpox (variole bovine), de séquences nucléotidiques auparavant considérées comme spécifiques du virus variolique montre clairement que l'utilisation d'un locus unique pour l'amplification génique par PCR ne suffit pas à permettre une identification formelle. Les membres du Comité se sont interrogés sur la nécessité de procédures d'analyse rapides suffisamment sensibles pour permettre de distinguer les sous-espèces de virus variolique, alors que la prise en charge clinique des sujets infectés est la même. Il a été convenu que l'aptitude à détecter en temps réel la présence ou l'absence d'un orthopoxvirus quel qu'il soit serait nécessaire en cas de situation d'urgence sanitaire.

12. **Analyse de la séquence nucléotidique de l'ADN du virus variolique.** Le Comité a été informé que les séquences nucléotidiques de trois génomes complets de virus variolique étaient maintenant disponibles. Des parties importantes du génome de trois autres souches de virus variolique – Congo 70, Somalia 77 et India 7124 – ont également été déterminées. La séquence complète du virus du camelpox (variole du chameau), le plus étroitement apparenté au virus variolique que l'on connaisse, a été décrite. Il existe également de nombreuses données sur la séquence de gènes individuels de divers autres orthopoxvirus.

13. Les données obtenues jusqu'à présent ont confirmé les relations entre orthopoxvirus que l'on suppose liées à l'évolution et ont facilité la classification plus poussée de différents isolats de virus de la variole en sous-espèces. Au moins six séquences complètes du génome du virus variolique devraient être disponibles d'ici la fin 2002. Il se peut également que l'on obtienne des informations sur la séquence du virus à partir de matériel provenant de croûtes cicatricielles et n'ayant pas fait l'objet de passages *in vitro*. Le Comité a conclu que de très importants progrès avaient été réalisés dans l'analyse des séquences du génome des virus varioliques.

14. **Détection sérologique du virus variolique.** Des travaux faisant appel à des anticorps monoclonaux et polyclonaux dirigés contre des protéines de virus de la vaccine, utilisés dans des tests immuno-enzymatiques de détection des orthopoxvirus, ont été décrits. A l'aide de ces réactifs, ce type de tests peut détecter divers orthopoxvirus, dont ceux du camelpox, du cowpox, du monkeypox, de la vaccine et de la variole. Ces tests détectaient les différents virus avec une sensibilité relative variable et ne permettaient pas de différencier les souches. Des travaux sont en cours afin de déterminer si des tests utilisant ces mêmes réactifs peuvent distinguer des souches vivantes de variole mineure et majeure.

15. Le Comité a conclu qu'un grand nombre de travaux utiles étaient en cours dans ce domaine et qu'il serait utile de caractériser entièrement tout anticorps monoclonal produit par rapport aux protéines du virus variolique contre lesquelles ils réagissent.

16. **Médicaments antiviraux.** Le cidofovir inhibe une grande variété de virus à ADN, dont les orthopoxvirus. Il agit par inhibition sélective de l'ADN-polymérase virale. Des tests *in vitro* de recherche de l'activité antivirale montrent que le cidofovir inhibe à la fois le virus de la vaccine et 35 isolats différents de virus variolique. Tous les isolats ont une sensibilité similaire au médicament et l'induction de mutations conduisant à la résistance ne semble pas poser de problème. D'autres orthopoxvirus pourraient donc être mis au point en tant que modèles de remplacement pour les essais d'antiviraux après la destruction des stocks de virus variolique. Le Comité a noté que des progrès considérables avaient été réalisés dans ce domaine.

17. **Modèles animaux.** La plupart des travaux ont été réalisés sur l'infection du singe cynomolgus par aérosol au moyen des souches Yamada et Lee de virus variolique. Les signes cliniques apparaissent chez les animaux infectés dans les six jours suivant l'inoculation. La maladie clinique se déclare et les animaux font une séroconversion mais ne meurent pas. Le Comité a conclu que ce modèle ne convenait pas à l'évaluation de l'efficacité de nouveaux vaccins ou médicaments. De nouveaux travaux devraient être réalisés avec différentes souches de virus variolique et différentes espèces de primates, éventuellement dans le cadre d'un projet en collaboration avec les scientifiques du Centre VECTOR portant sur l'utilisation du babouin comme modèle animal.

18. Le Comité a conclu que les progrès réalisés étaient satisfaisants mais qu'ils étaient lents. Il a pris note des travaux proposés sur l'infection du babouin, mais a indiqué que des travaux supplémentaires seraient nécessaires pour identifier et caractériser d'autres modèles de remplacement par rapport au modèle d'infection par le virus variolique de façon à pouvoir établir un système validé d'évaluation des médicaments et vaccins.

19. Une nouvelle réunion du Comité est prévue à la fin 2001, dont les recommandations seront présentées au Conseil exécutif à sa cent neuvième session en janvier 2002.

## MESURES A PRENDRE PAR L'ASSEMBLEE DE LA SANTE

20. L'Assemblée de la Santé est invitée à prendre note du rapport.

= = =