

Comité consultatif OMS de la Recherche sur le Virus variolique

Rapport de la douzième réunion

Genève (Suisse)
17-18 novembre 2010

ALERTE ET ACTION
AU NIVEAU MONDIAL

Comité consultatif OMS de la Recherche sur le Virus variolique

Rapport de la douzième réunion

Genève (Suisse)
17-18 novembre 2010

© **Organisation mondiale de la Santé 2011**

Tous droits réservés.

Les appellations employées dans la présente publication et la présentation des données qui y figurent n'impliquent de la part de l'Organisation mondiale de la Santé aucune prise de position quant au statut juridique des pays, territoires, villes ou zones, ou de leurs autorités, ni quant au tracé de leurs frontières ou limites. Les lignes en pointillé sur les cartes représentent des frontières approximatives dont le tracé peut ne pas avoir fait l'objet d'un accord définitif.

La mention de firmes et de produits commerciaux ne signifie pas que ces firmes et ces produits commerciaux sont agréés ou recommandés par l'Organisation mondiale de la Santé, de préférence à d'autres de nature analogue qui ne sont pas cités. Sauf erreur ou omission, une majuscule initiale indique qu'il s'agit d'un nom déposé.

L'Organisation mondiale de la Santé a pris toutes les précautions raisonnables pour vérifier les informations contenues dans la présente publication. Toutefois, le matériel publié est diffusé sans aucune garantie, expresse ou implicite. La responsabilité de l'interprétation et de l'utilisation dudit matériel incombe au lecteur. En aucun cas, l'Organisation mondiale de la Santé ne saurait être tenue responsable des préjudices subis du fait de son utilisation.

La présente publication exprime les vues collectives d'un groupe international d'experts et ne représente pas nécessairement les décisions ni les politiques de l'Organisation mondiale de la Santé.

Imprimé par le Service de production des documents de l'OMS, Genève (Suisse)

Table des matières

| | | |
|-----|---|----|
| 1. | Rapport du Secrétariat | 3 |
| 2. | Le point sur les propositions de recherche approuvées par l’OMS | 4 |
| 3. | Le point sur les clones d’ADN du virus variolique conservés au NICD, Afrique du Sud | 4 |
| 4. | Analyse scientifique de la recherche sur le virus variolique, 1999-2010 | 5 |
| 5. | Le Groupe consultatif d’experts indépendants chargé d’examiner le programme de recherche sur la variole | 9 |
| 6. | Réseau des laboratoires de diagnostic de la variole | 11 |
| 7. | Le point sur les stocks de virus variolique détenus dans les conservatoires des États-Unis d’Amérique et de la Fédération de Russie | 11 |
| 8. | Le point sur la thérapeutique anti-orthopoxvirus | 12 |
| 9. | Le point sur les modèles animaux | 13 |
| 10. | Le point sur les vaccins antivarioliques | 14 |
| 11. | Les stocks de vaccins antivarioliques de l’OMS | 16 |
| 12. | Les archives du Programme d’éradication de la variole de l’OMS | 16 |
| 13. | L’avenir du Comité consultatif | 17 |
| | Annexe 1. Résumé des communications | 18 |
| | Annexe 2. Ordre du jour de la réunion | 52 |
| | Annexe 3. Liste des participants | 55 |

1. Rapport du Secrétariat

- 1.1 Le Comité consultatif OMS de la Recherche sur le Virus variolique s'est réuni les 17 et 18 novembre 2010, avec le Professeur G. L. Smith pour Président et les Drs R. Drillien et F. McLellan comme Rapporteurs.
- 1.2 Le Dr K. Fukuda a ouvert la réunion, notant que les discussions relative à ces questions sont en cours depuis 1986 et présentent toujours un grand intérêt pour les pays. Entre autres thèmes abordés, ce groupe a été réuni pour évaluer un vaste examen de la recherche liée au virus variolique, préalablement à un débat qui doit avoir lieu lors de la Soixante-Quatrième Assemblée mondiale de la Santé sur le choix du moment auquel il faudra détruire les stocks de virus variolique. L'évaluation s'intéressera à deux points principaux : tout d'abord à un examen de la littérature et des données non publiées mené par un groupe de scientifiques approuvé par le présent Comité ; et deuxièmement à un examen externe de cet examen lui-même, qui a été effectué par des experts n'appartenant pas au champ d'étude du virus variolique. Cette réunion débouchera sur un rapport qui viendra s'ajouter aux deux autres documents, le tout devant être disponible le plus tôt possible, préalablement à leur soumission au Conseil exécutif en janvier 2011.
- 1.3 Le Dr P. Formenty a informé le groupe des activités menées cette année dans le cadre du projet de l'OMS sur la variole. L'Assemblée mondiale de la Santé a pris note du rapport de la réunion du Comité consultatif de l'année dernière en mai 2010. Celui de cette douzième réunion sera soumis à la Soixante-Quatrième Assemblée mondiale de la Santé en mai 2011. En mai 2007, la résolution WHA60.1 avait demandé un examen scientifique approfondi ; en 2008, il avait été décidé que cet examen consisterait en deux parties – l'examen scientifique lui-même et un examen indépendant par des experts extérieurs n'appartenant pas au champ d'étude de la variole (le rapport du Groupe consultatif d'experts indépendants chargé de l'examen du programme de recherche sur la variole). Le rapport d'inspection du centre collaborateur OMS des Centers for Disease Control and Prevention (États-Unis d'Amérique) a été finalisé l'année dernière et un rapport du centre collaborateur OMS de VECTOR (Novossibirsk, Fédération de Russie) est en cours de finalisation. Les travaux du sous-comité sur le réseau des laboratoires de la variole ont débuté sous la direction du Dr J.-C. Piffaretti, coordonnateur. Des modes opératoires normalisés ont été élaborés pour la réserve de vaccins antivarioliques. Le projet Archives, qui consiste pour partie à scanner toute la documentation liée à la variole, soit près de 700 000 pages de documents consultables, a été présenté ultérieurement au cours de la réunion.
- 1.4 Conformément à la politique de l'OMS, tous les membres, conseillers et observateurs du Comité consultatif ont rempli et signé une déclaration d'intérêts. Six experts ont déclaré un conflit d'intérêts potentiel s'agissant des thèmes abordés lors de cette réunion. Aucun conflit d'intérêts digne d'être pris en considération n'a été déclaré par les autres experts. Ceux déclarés par Peter Biggins et Jean-Claude Piffaretti ont été considérés comme minimes et peu susceptibles de modifier, ou de pouvoir raisonnablement modifier, leur jugement. Quatre experts ont déclaré des conflits d'intérêts dont le Secrétariat a estimé qu'ils devaient être révélés :

- Le Dr Jacob Thorup Cohn a indiqué qu'il était employé par Bavarian-Nordic, une firme privée danoise de biotechnologie de pointe travaillant dans le domaine des contre-mesures antivarioliques (antiviraux, vaccins).
- Le Dr Randall Lanier a indiqué qu'il était employé par Chimerix et qu'il possédait des actions de cette société qui participe au développement d'un produit qui pourrait servir de mesure de biodéfense au cas où des virus varioliques seraient libérés dans la nature. Le Dr Lanier a indiqué en outre que Chimerix avait financé son voyage pour qu'il puisse assister à cette réunion du Comité consultatif.
- Le Dr Grant McFadden a indiqué qu'il avait travaillé comme consultant pour SIGA Corporation concernant la demande d'homologation du ST-246 comme antiviral contre la variole, adressée à la FDA.
- Le Dr Robert Drillien a indiqué qu'il avait travaillé comme consultant pour Bavarian-Nordic, une firme qui produit un vaccin antivariolique, et qu'il était consultant auprès de l'armée française en matière de vaccins antivarioliques.

2. Le point sur les propositions de recherche approuvées par l'OMS

- 2.1 Le Dr R. Drillien a fait le point des propositions de recherche soumises à l'OMS et approuvées par le sous-comité scientifique entre novembre 2009 et août 2010. Il a noté que toutes les propositions approuvées font suite à des projets en cours et ne sont pas nouvelles. Le détail des projets est résumé à l'annexe 1. Il a brièvement passé en revue chaque proposition. Le Comité a demandé au Secrétariat de préparer une liste de tous les projets de recherche qui ont été menés à leur terme.

3. Le point sur les clones d'ADN du virus variolique conservés au NICD, Afrique du Sud

- 3.1 Le Professeur R. Swanepoel a fait le point sur les clones d'ADN du virus variolique conservés au National Institute for Communicable Diseases (NICD), qui a succédé au National Institute of Virology (Afrique du Sud). Après la déclaration par l'OMS de l'éradication de la variole en 1980, toutes les collections nationales de virus variolique devaient être conservées dans quatre conservatoires situés respectivement aux États-Unis d'Amérique, en URSS/Fédération de Russie, en Afrique du Sud et au Royaume-Uni. En 1982, les stocks de virus variolique détenus au Royaume-Uni ont été transférés aux États-Unis d'Amérique. Un accord a été conclu selon lequel l'Afrique du Sud recevrait les clones de plasmides recombinés contenant des fragments d'ADN du virus variolique qui avaient été préparés au Royaume-Uni par le Dr K. R. Dumbell en échange de la destruction de son stock de virus. Le 9 décembre 1983, le stock de virus variolique a été détruit en présence du Dr Dumbell, qui avait été désigné par l'OMS pour être témoin de cette destruction. Le NICD a ensuite reçu les clones de plasmides recombinés renfermant de l'ADN, non infectieux. Ces clones, qui n'ont jamais été utilisés, sont actuellement détenus (octobre 2010) dans le laboratoire BSL4 du NICD. Le Département de la Santé d'Afrique du Sud a décidé que dorénavant les clones de plasmides recombinés potentiellement utiles pour la production de réactifs diagnostiques et ne renfermant pas plus de 20 % du génome viral devraient être

conservés. Le reste des clones devrait soit être transféré au conservatoire des CDC, soit être détruit sous la supervision de l'OMS. Si le conservatoire des CDC possède déjà des doubles de ces clones, il vaudrait mieux les détruire en Afrique du Sud plutôt que de les transporter.

DISCUSSION DU COMITE : le Comité a fait observer qu'au cas où des doubles des clones de plasmides recombinés contenant des fragments d'ADN du virus variolique existeraient déjà aux CDC, il serait inutile de transférer les stocks ou de les conserver.

4. Analyse scientifique de la recherche sur le virus variolique, 1999-2010

- 4.1 Le Président a remercié les auteurs de l'*Analyse scientifique de la recherche sur le virus variolique, 1999-2010* pour leur travail, et plus particulièrement pour leur patience concernant les modifications rédactionnelles.
- 4.2 L'évaluation globale du Comité a été la suivante : le point de vue consensuel du Comité sur les conclusions auxquelles l'examen est parvenu dans l'ensemble a été que des progrès louables ont été accomplis dans tous les domaines, tout en admettant que des études scientifiques supplémentaires peuvent être réalisées. La décennie écoulée a vu la production d'une quantité remarquable de résultats. La progression en vue des objectifs pour lesquels ces recherches avaient été autorisées a été exceptionnelle, mais n'est pas encore achevée. Les tâches pour lesquelles le virus vivant est nécessaire ont considérablement diminué.
- 4.3 Le Dr A. Alcamì a présenté le chapitre 1, sur les vaccins antivarioliques, qui est résumé à l'annexe 1. Ce chapitre conclut que « l'homologation de vaccins antivarioliques produits en culture tissulaire a été un pas en avant utile ; cependant, l'utilisation de ces vaccins serait contre-indiquée sur le plan médical pour les sujets présentant une immunodéficience et certaines affections dermatologiques. Puisque la variole a été éradiquée, l'efficacité des vaccins de nouvelle génération devra être testée à l'aide de virus pox apparentés au virus variolique dans des études sur la protection chez les animaux et dans des études d'innocuité et d'immunogénicité chez l'homme. Toutefois, on pourrait accroître notre confiance dans la capacité de ces vaccins à protéger contre la variole en utilisant du virus variolique vivant pour les épreuves de neutralisation *in vitro* et les études sur les primates non humains. ».

DISCUSSION DU COMITE : le Comité a rappelé que le vaccin antivariolique était indispensable à l'éradication de la variole. Néanmoins, on a impérieusement besoin de vaccins ayant un meilleur profil d'innocuité. Certains progrès ont été réalisés en ce sens : par exemple un vaccin produit en culture tissulaire conforme aux normes modernes de bonnes pratiques de fabrication et un vaccin atténué ont été produits et homologués, et des souches vaccinales de virus de la vaccine plus atténuées sont en cours de développement. Des débats étendus ont eu lieu sur les mérites relatifs des modèles animaux ayant recours au virus variolique pour des tests approfondis de l'efficacité vaccinale de ces vaccins en l'absence de maladie chez l'homme. Le Comité a convenu que les études de neutralisation *in vitro* et sur des primates non humains au moyen du virus variolique vivant seraient souhaitables pour augmenter la confiance dans l'efficacité des vaccins candidats. Certains membres ont estimé que plusieurs vaccins atténués obtenus au moyen de passages en culture cellulaire ont peut-être atteint un

degré de développement tel qu'on n'a plus besoin d'utiliser encore du virus variolique vivant.

DECISION : le Comité a approuvé les conclusions des auteurs.

- 4.4 Le Dr I. Damon a présenté le chapitre 2 sur les épreuves diagnostiques de laboratoire, qui est résumé à l'annexe 1. La conclusion de ce chapitre est que « il y a eu une multiplication remarquable du nombre de dosages diagnostiques de l'acide nucléique du virus variolique mais une extension très limitée des techniques diagnostiques immunologiques ou basées sur les protéines. Tous les dosages mis au point à ce jour sont fondés sur la recherche ; aucun n'a achevé les processus d'examen et d'homologation réglementaires ».

DISCUSSION DU COMITE : le Comité a évoqué l'algorithme clinique indiqué pour le diagnostic de la variole, a pris note des considérations importantes relatives à la valeur prédictive positive pour l'interprétation des résultats des dosages lorsque la maladie a une faible prévalence et a recommandé d'ajouter cette discussion au chapitre 2. Il a également pris note de ce que plusieurs organisations ont produit des vidéos et des DVD pour le diagnostic, notamment l'OMS, les CDC, l'US Army, des États Membres et d'autres encore.

DECISION : les opinions ont divergé au sein du Comité concernant le fait de savoir si du virus variolique vivant était nécessaire pour développer plus avant, améliorer et homologuer des outils diagnostiques destinés à l'usage clinique.

- 4.5 Le Dr G. McFadden a présenté le chapitre 3 sur la génomique de la variole, qui est résumé à l'annexe 1. Ce chapitre a conclu que « les données publiquement disponibles sur la génomique ont été utilisées par de nombreux scientifiques internationaux afin de concevoir des outils diagnostiques extrêmement sensibles au virus. Les nouvelles connaissances que l'on a des liens de parenté existants entre le virus variolique et les autres orthopoxvirus fournissent également des indices importants permettant de comprendre l'intérêt et les limites des modèles animaux pour l'étude de la variole humaine. Le développement remarquable des techniques de synthèse, de séquençage et de clonage de l'ADN a créé la situation dans laquelle nous sommes aujourd'hui, où il est désormais techniquement possible de synthétiser l'ensemble du génome du virus variolique à partir de rien en ne se servant que des données publiquement disponibles sur les séquences et de reconstituer le virus infectieux à l'aide des techniques de biologie moléculaire actuellement disponibles. De ce fait, les stratégies futures de biodéfense doivent incorporer une nouvelle façon de penser concernant la meilleure façon de contrôler l'application de ces technologies de biosynthèse. ».

DISCUSSION DU COMITE : le Comité a pris note des progrès extraordinaires réalisés dans le séquençage du génome du virus variolique et du fait que 48 génomes ont été séquencés, analysés et publiés. Il a également reconnu le changement de perspective qui s'est opéré avec l'avènement de la biosynthèse et le fait qu'on ait réalisé qu'un virus variolique vivant pouvait être créé sans avoir accès aux stocks de virus variolique détenus actuellement par les centres collaborateurs de l'OMS. Il a également été noté qu'il était potentiellement faisable de créer un virus variolique de synthèse impossible à détecter à l'aide de certains des dosages diagnostiques actuels – mais l'on ignore si le virus obtenu pourrait être pathogène.

Le Comité a souligné la nécessité de mettre en place des mesures réglementaires complémentaires, des lignes directrices révisées et d'adopter à l'échelle internationale des règles visant à réduire la probabilité que des virus varioliques vivants soient créés. Il a ensuite débattu de la question de savoir si une recombinaison entre les orthopoxvirus qui existent dans la nature pourrait donner un virus ayant une virulence comparable à celle du virus variolique et a reconnu qu'on ne pouvait avoir aucune certitude à cet égard. Des questions ont été posées concernant l'insertion de gènes étrangers qui modifieraient la virulence, brièvement abordée dans ce chapitre. Il a été noté par ailleurs qu'il était interdit d'appliquer toutes les techniques de génie génétique au virus variolique, y compris l'insertion de gènes étrangers dans son génome. On a évoqué la spécificité de l'hôte du virus variolique. Il a été noté qu'on ignore toujours pourquoi la variole montre un tropisme spécifique pour l'homme et qu'il s'agit là d'une question importante que l'on se pose pour de nombreux germes pathogènes.

DÉCISION : le Comité a convenu qu'il n'était plus nécessaire d'avoir du virus variolique vivant pour l'étude de la génomique de ce virus.

- 4.6 Le chapitre 4, relatif à la situation des conservatoires des centres collaborateurs de l'OMS, a été présenté par le Dr I. Damon et résumé à l'annexe 1. Ce chapitre récapitule la situation actuelle (en janvier 2010) des conservatoires de virus variolique vivant, des stocks d'ADN du virus variolique et – le cas échéant – de l'utilisation et de la distribution de fragments de gènes du virus variolique conformément aux recommandations de l'OMS. Les conservatoires de virus variolique sont actuellement limités à deux laboratoires : le centre collaborateur OMS pour la variole et les autres orthopoxviroses des Centers for Disease Control and Prevention d'Atlanta, Géorgie (États-Unis d'Amérique) ; et le centre collaborateur OMS pour le diagnostic des orthopoxviroses et conservatoire des souches et de l'ADN du virus variolique du Centre de Recherche d'État en Virologie et Biotechnologie VECTOR de Koltsovo, région de Novossibirsk (Fédération de Russie). Les rapports annuels de ces deux laboratoires concernant l'utilisation du virus variolique vivant et la situation des conservatoires sont soumis au Secrétariat de l'OMS. Depuis 2000, ces rapports ont également été exposés en personne lors des réunions annuelles du Comité consultatif OMS de la Recherche sur le Virus variolique, qui sont convoquées pour examiner les travaux effectués avec du virus variolique vivant. Les résumés de ces communications sont disponibles en ligne, via le site Web de l'OMS.¹

DISCUSSION DU COMITE : le Comité a pris note de ce que, pendant plus de deux décennies, le virus variolique a été confiné avec succès dans deux endroits sûrs, décennies au cours desquelles il a été utilisé pour des recherches approuvées par l'OMS effectuées par des partenaires internationaux. En outre, des fragments non infectieux d'ADN du virus variolique ont été distribués conformément aux lignes directrices de l'OMS et sous la supervision du Secrétariat de l'OMS.

DÉCISION : le Comité partage l'avis des auteurs.

¹ <http://www.who.int/csr/disease/smallpox/research/en/index.html>, consulté le 1^{er} décembre 2010.

- 4.7 Le Dr P. Jahrling a présenté le chapitre 5, sur les modèles animaux et la pathogénèse de la maladie, résumé à l'annexe 1. Il a conclu qu'il est probable qu'il n'existe pas une combinaison unique de conditions qui puisse déboucher sur un modèle satisfaisant simultanément à tous les critères requis dans le cadre de l'« *Animal Rule* » de la Food and Drug Administration (FDA) des États-Unis d'Amérique (US 21CRF310.610) ; différents modèles peuvent être nécessaires pour évaluer différentes indications. Pour affiner les modèles de primates, il pourrait falloir inclure des données physiopathologiques provenant d'études faisant appel à la télémétrie et à l'imagerie médicale. Si une partie importante de ce travail de mise au point peut être accomplie en utilisant des orthopoxvirus de remplacement chez les rongeurs et les primates, on ne pourra obtenir une confiance accrue dans les contre-mesures appliquées contre le virus variolique que par des tests d'efficacité chez des modèles de primates réalisés avec du virus variolique.

DISCUSSION DU COMITE : le Comité a pris note des progrès considérables accomplis dans le développement et l'utilisation de modèles d'infection par le virus variolique reflétant certains des aspects de la variole humaine. Ces modèles ont été utilisés pour comprendre les mécanismes pathogènes, évaluer de nouveaux antiviraux et mettre au point des outils diagnostiques. En outre, un modèle de monkeypox chez le primate a été employé pour l'évaluation des vaccins candidats et des antiviraux.

L'évolution des exigences des autorités de réglementation et les fondements scientifiques de la réglementation applicable à l'homologation ont été évoqués et le dialogue étendu entre chercheurs et agences de réglementation noté. Ce dialogue a permis d'établir les programmes expérimentaux et est permanent. On pense que l'on aura besoin de tests d'efficacité protectrice contre le virus variolique chez des modèles animaux pour homologuer les nouveaux antiviraux contre la variole.

DÉCISION : le Comité pense que les travaux effectués chez l'animal avec du virus variolique vivant ont renforcé la justification scientifique de l'homologation des antiviraux, et certains membres du Comité estiment ainsi que des études supplémentaires au moyen du virus variolique vivant sont nécessaires.

- 4.8 Le Dr J. Huggins a présenté le chapitre 6, sur la mise au point des antiviraux pour le traitement de la variole, résumé à l'annexe 1. Le projet décrit dans ce chapitre a été entrepris pour pouvoir obtenir deux antiviraux homologués pour voie orale, ayant des mécanismes d'action différents permettant de traiter des cas cliniques de variole. Il est remarquable de constater que trois composés (le cidofovir, le ST-246[®] et le CMX001) qui inhibent la réplication du virus variolique, en culture cellulaire et chez de nombreux modèles animaux faisant appel à des orthopoxvirus de remplacement, ont obtenu de la FDA le statut d'Investigational New Drug pour le traitement des infections à orthopoxvirus. Les premières études chez l'homme sont en cours. Comme le virus variolique a été éradiqué de la population humaine, les essais traditionnels d'efficacité cliniques ne sont pas réalisables. En outre, il est impossible sur le plan éthique d'effectuer des essais cliniques chez l'homme de sorte que la démonstration de leur efficacité doit s'appuyer sur l'« *Animal Rule* » de la FDA. Étant donné les incertitudes que cette dernière comporte, et le fait qu'il n'y a actuellement aucun antiviral homologué pour aucun type d'indication (traitement ou chimioprophylaxie) pour la

variole, il est difficile de fournir des estimations solides relatives aux calendriers à suivre ou aux données nécessaires pour que ces produits soient homologués.

Le Dr Huggins a conclu qu'on pourrait invoquer le fait qu'il faut maintenir la possibilité d'effectuer les travaux avec du virus variolique vivant jusqu'à ce qu'un nombre suffisant d'antiviraux ayant des mécanismes d'action différents aient obtenu leur homologation réglementaire et puissent être utilisés partout dans le monde pour combattre une flambée.

DISCUSSION DU COMITE : le Comité a applaudi au développement de deux antiviraux extrêmement prometteurs (ST-246[®] et le CMX001) qui ont fait la preuve d'une certaine protection chez plusieurs modèles animaux d'orthopoxviroses, notamment dues au virus variolique, à l'orthopoxvirus simien et au virus pox du lapin. Les études cliniques de phases 1 et 2 ont également mis en évidence un excellent profil d'innocuité pour ces deux composés candidats chefs de file. Le Comité a pris note de ce que certaines données chez l'animal, en particulier provenant d'études sur le ST-246[®], ont montré qu'on pouvait simultanément vacciner et administrer le médicament sans atténuer la réponse immunitaire. On a également montré que chez certains modèles l'administration simultanée de ces deux antiviraux conférait une meilleure protection que chacun des médicaments utilisé seul. D'autres antiviraux que le ST-246[®] et le CMX001 en sont aux stades précoces de l'évaluation. Le Comité a souligné que pour les organismes de réglementation, la question est de savoir quelles sont les données supplémentaires nécessaires pour l'homologation.

Il a été noté que les exigences relatives aux essais cliniques sont extrêmement contraignantes et, de ce fait, pas nécessairement dans les limites du possible des systèmes biologiques disponibles. Le Comité a débattu de la question de savoir si des données primaires pouvaient être rassemblées puis transmises aux organismes de réglementation pour un retour d'information. La conclusion a été qu'il existe des différences entre les divers organismes de réglementation et que ces derniers donneraient très probablement un avis scientifique non contraignant.

DÉCISION : le Comité a convenu de ce que les données issues de l'utilisation du virus variolique vivant ont facilité les progrès en vue de l'homologation des antiviraux mais qu'il y avait des divergences d'opinion parmi les membres du Comité sur la question de savoir si l'on avait besoin de données supplémentaires issues des modèles animaux utilisant le virus variolique vivant pour obtenir l'homologation dans tous les pays.

5. Le Groupe consultatif d'experts indépendants chargé d'examiner le programme de recherche sur la variole : observations sur l'Analyse scientifique de la recherche sur le virus variolique, 1999-2010

- 5.1 Le Dr T. Sorrel a présenté le rapport du Groupe consultatif d'experts indépendants chargé d'examiner le programme de recherche sur la variole, résumé à l'annexe 1. Elle a noté que quelques inexactitudes mineures sont apparues dans ce rapport et seraient corrigées. Le Groupe consultatif a estimé que l'*Analyse scientifique de la recherche sur le virus variolique, 1999-2010* était rédigée de manière claire et intelligible et qu'elle offrait effectivement une mise à jour précise de la recherche sur le virus variolique,

notamment des effets des restrictions réglementaires sur la recherche actuelle et future. Le rapport complet est subdivisé en trois sections, conformément au mandat donné au Groupe. La section 1 fournit un résumé de chaque chapitre de l'analyse scientifique, suivi des observations qui les concernent. La section 2 renferme les recommandations du Groupe pour les recherches ultérieures et des observations sur les conservatoires du virus variolique. Enfin, la section 3 résume les recommandations du Groupe permettant de garantir des normes de sécurité élevées pour se prémunir contre la réémergence de la variole.

DISCUSSION DU COMITÉ : le Comité a analysé et discuté du rapport du Groupe consultatif, qui a été considéré comme excellent. Il a également accueilli avec satisfaction le processus par lequel les avis figurant dans le rapport du Groupe consultatif ont été communiqués aux auteurs de l'analyse scientifique et a remercié ces auteurs pour leur travail. Il a été noté qu'il y avait quelques inexactitudes mineures dans ce rapport ; les membres du Groupe consultatif d'experts indépendants qui assistaient à la réunion ont reconnu ces dernières et convenu de les corriger. Un rapport finalisé sera présenté.

- 5.2 Le Comité a examiné les délais de conservation des fragments d'ADN du virus variolique dans les laboratoires autres que ceux des CDC et de VECTOR, l'exigence qui veut que ces fragments d'ADN et autres réactifs soient détruits lorsque les expériences sont achevées, et a posé la question de savoir si les laboratoires ayant reçu les échantillons d'ADN confirmaient bien la destruction de ces derniers. Il a été proposé que le Secrétariat de l'OMS contacte tous les laboratoires qui en ont reçu afin d'apporter une réponse à ces questions.
- 5.3 Le Comité a indiqué que plusieurs milliers de composants ont été criblés à la recherche d'une activité contre les orthopoxvirus et le virus variolique, à l'aide d'un dosage *in vitro* en culture cellulaire. La structure de ces composés ne sera pas révélée avant que leur mise au point n'en soit à un stade avancé. Les résultats des criblages ont été notifiés au Comité consultatif lors de ces deuxième, troisième et cinquième réunions, en 2001 et 2003. Bon nombre des substances initialement évaluées contre le virus variolique ont été répertoriées au moyen d'un numéro d'identification du fournisseur plutôt que par la description de la classe chimique à laquelle elles appartiennent. La structure de certains composés a été révélée lorsqu'ils ont été évalués chez les modèles animaux de la variole. Le Secrétariat a pris note de ce que, conformément aux résolutions de l'Assemblée mondiale de la Santé applicables, les propositions, résultats et avantages résultant de ces recherches devaient être mis à la disposition de tous les États Membres. Cependant, il a également été noté qu'il pourrait être difficile pour les centres collaborateurs d'avoir accès à ces composés et pour les firmes d'investir dans le développement de substances prometteuses s'il n'existe pas des accords de non-divulgaration ou autres formes comparables de protection. Il a également été noté que la mise en circulation des données montrant que de nombreux composés n'avaient pas d'activité contre le virus variolique permettrait d'éviter que d'autres études soient effectuées par d'autres groupes sur les mêmes substances.
- 5.4 Le Comité a examiné la question du développement des nouveaux composés et s'est interrogé sur la nécessité de poursuivre un criblage à grande échelle pour en trouver d'autres, compte tenu de l'existence de deux substances, ayant chacune des cibles

différentes, permettant d'inhiber la maladie causée par plusieurs orthopoxvirus, y compris le virus variolique dans plusieurs modèles animaux. Des préoccupations ont été exprimées quant à la mise au point potentielle par génie génétique de souches de virus variolique résistantes à ces médicaments et au fait qu'aucun d'entre eux n'a été homologué par un organisme de réglementation, créant ainsi un scénario compliqué pour une politique relative à leur utilisation.

- 5.5 On s'est aussi interrogé sur la nécessité de développer un troisième composé. Les auteurs du Groupe consultatif ont indiqué qu'ils ne recommandaient pas dans l'immédiat la recherche d'autres antiviraux, mais ils ont posé la question de l'importance de la résistance et noté la nécessité de consulter des experts pour savoir si d'autres antiviraux étaient nécessaires.

6. Réseau des laboratoires de diagnostic de la variole

- 6.1 Le Dr J.-C. Piffaretti a présenté une mise à jour des travaux du sous-comité du réseau des laboratoires de diagnostic de la variole (voir résumé à l'annexe 1). Ce sous-comité a été constitué afin d'examiner la création d'un réseau OMS de laboratoires diagnostiques de haut niveau à travers le monde dans l'intention de dépister rapidement et systématiquement toute émergence de virus varioliques. Les modalités de fonctionnement de ce réseau sont en cours de finalisation. Il englobera les deux laboratoires de référence ainsi qu'un certain nombre de laboratoires régionaux, un ou deux dans chaque Région de l'OMS.

DISCUSSION DU COMITÉ : des préoccupations ont été exprimées concernant la longue liste de critères auxquels devront satisfaire les laboratoires régionaux, mais il a été noté que les laboratoires de diagnostic médical de haut niveau existants satisfaisaient déjà à la plupart de ces critères. Des débats étendus ont porté sur le financement, l'utilisation des laboratoires existants et du personnel formé, l'intégration dans les systèmes nationaux de surveillance et sur la question de savoir s'il fallait structurer ce réseau dans le cadre du renforcement des capacités nationales en vertu du Règlement sanitaire international (2005). Le Secrétariat de l'OMS a précisé que le réseau est uniquement destiné à repérer un événement lié à la variole, à générer des résultats susceptibles de donner lieu à des mesures, avec un plan précis de mobilisation en cas de résultats positifs.

7. Le point sur les stocks de virus variolique détenus dans les conservatoires des États-Unis d'Amérique et de la Fédération de Russie

- 7.1 Le Dr K. Karem a fait le point du conservatoire du centre collaborateur OMS des Centers for Disease Control and Prevention d'Atlanta, Géorgie (États-Unis d'Amérique) (voir résumé à l'annexe 1). Il a exposé le travail récent sur l'évaluation du dosage par capture d'antigène variolique et sur le postséquençage d'autres génomes de l'orthopoxvirus bovin, ayant permis de découvrir que certains des dosages PCR « spécifiques de la variole » ont désormais perdu leur spécificité pour la variole en raison des données supplémentaires que l'on a concernant les séquences. Le Dr Karem a présenté une étude démontrant que les anticorps monoclonaux spécifiques du virus variolique ont une préférence pour les antigènes irradiés par des rayons gamma. La

détection de l'antigène du virus variolique vivant est au minimum 4 fois moins sensible que celle du matériel irradié par des rayons gamma. Cet écart n'est pas dû à des différences de souches virales, pas plus qu'à une réactivité artificielle après irradiation gamma. On a testé d'autres méthodes d'inactivation (irradiation UV, chaleur, formol) qui se sont avérées inférieures à l'irradiation gamma, réagissant de manière comparable à l'antigène vivant.

DISCUSSION DU COMITÉ : la nécessité de disposer de davantage de données relatives aux séquences d'autres orthopoxvirus a été évoquée en rapport avec la spécificité des épreuves diagnostiques axées sur l'acide nucléique du virus variolique. Des discussions ont également porté sur la meilleure méthode de confirmation d'un éventuel cas de variole. Là où la PCR en temps réel n'est pas disponible, il a été noté qu'il était nécessaire de disposer d'un dosage plus simple.

- 7.2 Le Dr S. Shchelkunov a fait rapport sur la collection de virus variolique du conservatoire du centre collaborateur OMS de VECTOR (Fédération de Russie) (voir résumé à l'annexe 1). En 2010, les flacons de verre dans lesquels les virus varioliques étaient stockés congelés ont été remplacés pour des raisons de sécurité par des cryoflacons de polypropylène portant des étiquettes imprimées résistantes aux solutions désinfectantes. L'activité de recherche actuelle porte sur les tests relatifs aux propriétés antivirales de composés ayant eu auparavant une efficacité antivirale répertoriée contre d'autres orthopoxvirus et aux propriétés neutralisantes des anticorps simple chaîne ayant montré auparavant une activité neutralisante contre d'autres orthopoxvirus.

DISCUSSION DU COMITÉ : des questions ont été posées concernant la nature des antiviraux utilisés. Cette information sera fournie dans le rapport annuel adressé à l'OMS.

8. Le point sur la thérapeutique anti-orthopoxvirus

- 8.1 Le Dr V. Olson a fait le point de l'utilisation du virus variolique vivant pour évaluer les antiviraux (voir résumé à l'annexe 1). Il a fourni des données démontrant qu'un extrait de plante (*Sarracenia purpurea*) permettait de limiter efficacement la réplication du virus variolique et du virus de la vaccine et semblait avoir le même mécanisme d'action contre ces deux virus. Cette activité contre les orthopoxvirus a indiqué qu'il pouvait potentiellement être utilisé comme agent thérapeutique. À l'avenir, les travaux seront axés sur une caractérisation plus complète de l'ingrédient actif de l'extrait brut (qui pourrait nécessiter une évaluation antivariolique complémentaire) et sur son efficacité potentielle contre l'orthopoxvirose systémique chez un modèle animal.

DISCUSSION DU COMITE : elles ont porté sur la réduction du titre viral et les effets du composé sur d'autres virus. Il a été noté que la présence de l'extrait a empêché la transcription virale et ce de façon dose-dépendante, mais on ignore toujours quel est l'élément actif de l'extrait et on le recherche par fractionnement biochimique. Seules les études futures (chez l'animal) permettront de déterminer si ce composé va être utile sur le plan pratique.

- 8.2 Le Dr D. Hruby a fait le point du développement du ST-246[®], un antiviral (voir résumé à l'annexe 1). Ce composé a montré une activité contre tous les orthopoxvirus testés en

culture cellulaire et chez des modèles animaux, notamment dans des études portant sur le virus variolique et le virus monkeypox chez des modèles de primates. En outre, il a montré une bonne stabilité et un excellent profil d'innocuité dans tous les tests effectués. Des essais cliniques de phase II chez l'animal ont été achevés de même que les études toxicologiques de base de la New Drug Application. La firme pharmaceutique SIGA est au cœur de la fabrication commerciale et de la préparation pour les études décisives d'innocuité et d'efficacité. Si la dose appropriée chez l'homme est encore à l'étude, le Dr Hruby a conclu que le ST-246[®] en est à un stade de développement très avancé et prêt à l'achat.

DISCUSSION DU COMITE : les débats ont porté sur le fait de savoir si les organismes de réglementation demanderont des expériences complémentaires avec le virus variolique vivant pour appuyer l'homologation, en particulier des études chez les primates, pour s'assurer que le modèle utilisé représente dans la mesure du possible la situation rencontrée chez l'homme. Des questions ont été posées sur la possibilité d'entreprendre des essais cliniques à titre compassionnel. La dose appropriée pour l'homme est toujours à l'étude.

- 8.3 Le Dr R. Lanier a fait le point du développement du CMX001, un antiviral contre la variole de Chimerix (voir résumé à l'annexe 1). Le CMX001 est un conjugué lipidique du cidofovir, un phosphonate nucléotidique acyclique. Il possède un large spectre d'inhibition des virus à ADN double brin (bicaténaire) provoquant des maladies chez l'homme, offre une forte barrière génétique à la résistance, une administration par voie orale commode sous forme de comprimé ou de liquide et jusqu'ici ne montre aucun signe de toxicité rénale. Il est efficace contre les orthopoxvirus dans les systèmes de culture cellulaire et chez les modèles animaux. Le CMX001 est en cours de développement dans le cadre de l'« *Animal Rule* » de la FDA et au stade du développement clinique de phase II chez l'homme pour le traitement des infections à cytomégalovirus.

DISCUSSION DU COMITE : des plans relatifs à des études supplémentaires chez plusieurs espèces ont été évoqués. Le Comité a pris note de ce que le dialogue entre les chercheurs et les organismes de réglementation est permanent. Il s'est interrogé sur la nécessité d'inviter des organismes de réglementation lors des futures réunions de ce Comité.

9. Le point sur les modèles animaux

- 9.1 Le Dr P. Jahrling a décrit les perspectives de développement de modèles de primates pour évaluer les mesures appliquées contre la variole et l'orthopoxvirose simienne chez l'homme (voir résumé à l'annexe 1). Le Dr Jahrling a expliqué que depuis 1999 des progrès ont été accomplis dans la mise au point des modèles animaux, mais a souligné qu'il n'existe toujours pas de modèle animal qui récapitule de manière satisfaisante tous les aspects de la variole humaine. Il a présenté de nouvelles études sur l'anatomopathologie de la variole humaine par comparaison avec des macaques cynomolgus ayant reçu par voie intraveineuse une inoculation d'épreuve de virus variolique et d'orthopoxvirus simien. Sa conclusion a été que des progrès importants ont été accomplis mais qu'il reste encore des recherches à mener avec le virus variolique vivant.

DISCUSSION DU COMITE : une longue discussion a porté sur le fait de savoir si l'orthopoxvirus simien ou le virus variolique chez le singe sont de meilleurs modèles de la variole humaine. La conclusion en a été qu'aucun d'entre eux ne récapitule complètement les traits de la variole humaine mais qu'on peut les utiliser pour évaluer l'efficacité diagnostique, antivirale et vaccinale. Certains membres du Comité pensent qu'il serait indispensable d'avoir un modèle d'inoculation d'épreuve du virus variolique pour l'homologation des contre-mesures. Des divergences d'opinion sont apparues dans le Comité concernant le fait de savoir s'il fallait rechercher d'autres modèles animaux ou si les modèles existants ont fourni suffisamment de données pour permettre l'évaluation des nouveaux vaccins et antiviraux.

10. Le point sur les vaccins antivarioliques

- 10.1 Le Dr L. Wegner a présenté l'état de développement clinique du vaccin antivariolique vivant atténué IMVAMUNE[®] (voir résumé à l'annexe 1). L'IMVAMUNE[®] s'est avéré sans danger chez les sujets en bonne santé et chez les patients infectés par le VIH ayant une numération des lymphocytes T CD4+ supérieure à 200 par μ l. L'IMVAMUNE[®] induit une réponse immunitaire rapide et forte, spécifique du virus de la vaccine, et comparable, qu'il s'agisse des sujets en bonne santé ou des groupes à risque.

DISCUSSION DU COMITE : des questions ont été posées concernant la réponse lymphocytaire T par comparaison avec les vaccins traditionnels. Le Dr L. Wegner a informé le Comité que l'IMVAMUNE[®] a une réponse en lymphocytes T comparable à celle des vaccins traditionnels. Le nombre de doses nécessaires a été évoqué, tout comme la voie d'administration (à l'heure actuelle l'administration sous-cutanée donne de meilleurs résultats que l'administration intramusculaire). On s'est ensuite interrogé sur les difficultés que va rencontrer l'IMVAMUNE[®] dans le cadre de l'« *Animal Rule* » et il a été constaté que, bien que l'IMVAMUNE[®] soit considéré comme sans danger pour des essais chez l'homme, aucune comparaison avec des vaccins traditionnels (de première et de deuxième génération) n'est possible puisque la FDA des États-Unis d'Amérique n'autorisera pas des essais avec les vaccins traditionnels en raison des problèmes d'innocuité qu'ils posent. L'essai de phase III à venir sera axé sur l'innocuité et l'immunogénicité et sera conçu en collaboration avec la FDA. Ses résultats sont attendus avec grand intérêt, car l'IMVAMUNE[®] semble être le produit dont l'état d'avancement est le plus poussé dans le cadre de l'« *Animal Rule* ». On a discuté des effets indésirables de ce vaccin et insisté sur son absence de toxicité cardiaque. Les avantages que présente le profil d'innocuité de la souche MVA dans les situations d'urgence ont été abordés, de même que les avantages relatifs des différentes voies d'administration ou les problèmes qu'elles posent. Les avantages potentiels qu'offre l'IMVAMUNE[®] par rapport aux stocks de virus existants et pour les populations immunodéprimées ont également été évoqués. Une version lyophilisée est prévue. Le prix de ce vaccin, qui est plus élevé que celui des vaccins traditionnels, a été évoqué. Il a été reconnu que ce prix constituerait un problème particulier pour le monde en développement, mais on s'attend à ce qu'il baisse. La durée de conservation de ce vaccin devrait être d'au moins trois ans sous sa formulation actuelle ; une durée de vie nettement plus longue exige une préparation lyophilisée. Les données relatives à la vaccination par l'IMVAMUNE[®] de sujets infectés par le VIH ayant une numération des ADE CD4+ faible ont été examinées de même que celles des études sur des primates non humains.

10.2 Le Dr H. Yokote a fait le point de l'utilisation du vaccin antivariolique LC16m8 au Japon (voir résumé à l'annexe 1). Dans les années 1960, un comité de recherche sur les vaccins antivarioliques a été constitué au Japon, dont les travaux ont débouché sur la création d'un nouveau vaccin antivariolique atténué : le LC16m8. Il s'agit d'un vaccin atténué préparé en culture tissulaire qui a été homologué au Japon en 1975. Récemment, le Groupe de recherche sur les vaccins antivarioliques a été établi pour s'attaquer à la recherche de mesures médicales contre le bioterrorisme. Ce Groupe a démontré que le LC16m8 : i) est tout aussi efficace que le vaccin préparé au moyen de la souche Lister ou que celui préparé avec la souche NYCBH qui a permis d'éradiquer la variole ; et ii) a un degré d'innocuité supérieur à celui du vaccin Lister ou du vaccin NYCBH. Les résultats de l'étude de surveillance postcommercialisation ont indiqué que le LC16m8 a un profil d'innocuité et d'immunogénicité élevé aussi bien chez les sujets « neufs » pour le virus de la vaccine que chez ceux qui l'ont déjà rencontré, ce qui correspond aux résultats des recherches cliniques antérieures. Le Dr Kurane a indiqué que le Groupe de recherche sur les vaccins antivarioliques était intéressé par l'évaluation des sérums postvaccination par le LC16m8, à la recherche de sa capacité de neutralisation du virus variolique, et qu'il souhaiterait pour cela collaborer avec les centres collaborateurs de l'OMS.

DISCUSSION DU COMITE : des questions ont été posées concernant le recrutement des patients immunodéprimés et le nombre de personnes présentant une dermatite atopique qui ont été vaccinées. Le Comité a demandé quels étaient les plans nationaux de stockage de ce vaccin et s'il pourrait être mis à disposition dans le cadre du stock mondial. La politique officielle du Gouvernement japonais relative au stock national n'est pas actuellement publiquement disponible. La capacité de fabrication maximum de 80 millions de doses par an a été confirmée.

10.3 Le Dr I. Damon a présenté « l'utilisation du virus variolique vivant à l'appui du développement de vaccins moins réactogènes : évaluation continue des vaccins de troisième génération » (voir résumé à l'annexe 1). Il a présenté le rôle du test de neutralisation par réduction des plages de virus variolique en tant que marqueur de l'efficacité du vaccin antivariolique ; l'importance de ces évaluations est peut-être encore plus grande pour l'évaluation de ces vaccins ne suscitant aucune « prise », qui est la mesure traditionnelle de l'efficacité d'un vaccin. Le Dr Damon a présenté des données qui laissent à penser qu'il n'y aurait qu'une faible corrélation entre les données de la neutralisation du virus de la vaccine et celles du virus variolique (dont le Dr Banerjee a noté qu'elles correspondaient aux études antérieures du Dr Downie). Il a également présenté des données montrant que l'ACAM3000 MVA est sûr et bien toléré à toutes les doses et par toutes les voies d'administration, qu'il est immunogène et suscite des réponses en anticorps neutralisants et en lymphocytes T contre le virus de la vaccine ainsi que des réponses en anticorps neutralisants contre la variole. La corrélation entre le pic de la réponse antivariolique Nab, la diminution de la réponse au Dryvax et la durée d'excrétion du virus de la vaccine qui lui est associé fait l'objet d'une analyse approfondie en tant que marqueur d'efficacité de remplacement.

DISCUSSION DU COMITE : le Comité a évoqué le nombre de variables figurant dans le système expérimental (par exemple des virus ayant été cultivés dans différents laboratoires) et s'est interrogé sur le fait que cela pourrait introduire un biais de confusion dans les résultats. Un contrôle supplémentaire a été proposé. Il s'est

également interrogé sur la nécessité de neutraliser le virus variolique *in vitro* pour pouvoir sélectionner de nouveaux vaccins, sans qu'aucune réponse n'ait été apportée à cette question.

11. Les stocks de vaccins antivarioliques de l'OMS

- 11.1 Le Dr P. Formenty a présenté une mise à jour des stocks de vaccins antivarioliques de l'OMS (voir annexe 1). L'OMS a constitué un stock stratégique de vaccin antivariolique de 30,5 millions de doses conservées en Suisse. Presque tout (98 %) (vaccin antivariolique ACAM2000TM – 30 millions de doses données par Baxter) le stock stratégique de l'OMS est constitué d'un vaccin de seconde génération. Le reste (2 %) (vaccin – 530 000 doses provenant d'Allemagne, de Belgique, de la Fédération de Russie, d'Iran (République islamique) et des Pays-Bas) du stock stratégique OMS est constitué d'un vaccin de première génération. En outre, par le biais d'un mécanisme de stock virtuel, quatre États Membres ont promis 27 millions de doses supplémentaires à l'OMS en cas de besoin : l'Allemagne, les États-Unis d'Amérique, la France et la Nouvelle-Zélande. L'OMS a convenu de modes opératoires normalisés avec ces quatre pays.

DISCUSSION DU COMITE : le Comité a demandé s'il existe des plans pour ajouter cette information au site Web de l'OMS. Le site Web de l'OMS sera reconfiguré à la fin 2010, moment auquel cette information sera ajoutée.

- 11.2 Le Secrétariat de l'OMS a abordé la question des stocks mondiaux et la perspective de campagnes de vaccination de masse. La distribution des antiviraux au cours de la récente pandémie de grippe A (H1N1) 2009 a été exposée : en 10 jours ouvrables, 80 % des pays les moins avancés avaient reçu des antiviraux provenant des stocks. Les scénarios qui ne sont pas dictés par des priorités de santé publique mais par des préoccupations relatives à la sécurité sont très problématiques pour l'Organisation. Des discussions directes avec ses homologues de la sécurité sont nécessaires.

12. Les archives du Programme d'éradication de la variole de l'OMS

- 12.1 Mme M. Villemin a présenté une mise à jour de la numérisation des archives du Programme d'éradication de la variole : résultats, perspectives et stratégie (voir résumé à l'annexe 1). Le projet de numérisation des archives du Programme d'éradication de la variole a débuté en juin 2009. La conservation des fichiers papier et l'intégration des archives scannées dans une base de données spécialisée ayant un moteur de recherche puissant ont été réalisées. Après l'intégration et la conservation, l'objectif suivant est de mettre toutes ces données à la disposition du monde entier via une interface Web spécialisée.

DISCUSSION DU COMITE : le Secrétariat a publiquement remercié la présentatrice et son équipe pour cette tâche monumentale de documentation et de conservation. La plupart des archives des bureaux régionaux de l'OMS ont été transférées ou dupliquées au Siège.

13. L'avenir du Comité consultatif

- 13.1 L'Assemblée mondiale de la Santé de 2011 déterminera l'avenir du Programme d'éradication de la variole et, par voie de conséquence, celui du Comité. Le Secrétariat de l'OMS a félicité le Comité pour sa méthode de travail et demandé que l'on se penche sur le fonctionnement interne de ce dernier et la façon dont il opère.

DISCUSSION DU COMITE : le Président a pris note de ce que l'accent mis sur la recherche comportant du virus variolique vivant a constitué le mandat du Comité. Par ailleurs, le Comité a tenu avec succès son rôle de conseil sur le programme de recherche, sans se concentrer sur la sécurité et la logistique. Il a également été noté qu'il y a eu une tendance à mettre l'accent sur les questions réglementaires, malgré l'absence actuelle d'experts de la réglementation au sein du Comité.

- 13.2 Le Secrétariat de l'OMS a sincèrement rendu hommage au travail effectué par le Comité, le félicitant pour ce qu'il a accompli sur le plan de l'analyse scientifique et de la supervision. Il a également exprimé sa gratitude aux conservatoires pour leur travail. Il a été noté que ce travail représente un excellent exemple de collaboration efficace entre recherche scientifique et politique.

Annexe 1. Résumé des communications

Le point sur les propositions de recherche soumises à l'OMS

Membres du Comité : **Robert Drillien, Mariano Esteban, Grant McFadden, Hermann Meyer, Akhilesh Chandra Mishra, Jean-Claude Piffaretti, Tony Robinson, Oyewale Tomori**

25 novembre 2009 : propositions soumises par VECTOR

1. Le maintien de la collection nationale russe de virus varioliques
2. L'utilisation du virus variolique vivant pour permettre le développement de vaccins faiblement réactogènes

Les examinateurs ont reconnu la nécessité de tester simultanément les mêmes sérums dans des épreuves de neutralisation du virus de la vaccine (comme proposé dans le projet) afin d'obtenir des données qui viendront confirmer ou non la nécessité d'études de séro-neutralisation future à l'aide du virus variolique. Ils ont souligné l'importance de l'inclusion des étalons de sérum internationaux dans leurs dosages. Un examinateur, non favorable à ce projet, a estimé que la capacité à neutraliser le virus de la vaccine avait été abondamment utilisée dans le passé pour évaluer l'activité de neutralisation dans des échantillons de sérum provenant d'individus vaccinés contre la variole et qu'il n'y avait aucune raison d'utiliser à la place du virus variolique. Cet examinateur a également fait observer que rien ne permettait de penser qu'une épreuve de neutralisation du virus variolique constitue un meilleur indicateur de la protection contre la variole qu'une épreuve de neutralisation du virus de la vaccine.

30 mai 2010 : propositions soumises par les CDC

1. Utilisation du virus variolique vivant pour maintenir et régénérer des matériels non infectieux dérivés du virus variolique afin de soutenir le développement diagnostique
2. Utilisation du virus variolique vivant pour évaluer les antiviraux
3. Utilisation du virus variolique vivant pour élaborer des épreuves de dépistage et de diagnostic basées sur les protéines spécifiques du virus variolique

Un examinateur a estimé que ce projet n'avait pas suffisamment précisé si de nouveaux anticorps monoclonaux seraient utilisés contre le virus variolique ou si ce travail ne comportait que l'analyse de collections d'anticorps monoclonaux existant déjà. Le sous-comité a recommandé d'approuver cette proposition à la condition que ce point soit précisé.

4. Utilisation du virus variolique vivant à l'appui du développement de vaccins moins réactogènes : évaluation continue des vaccins de troisième génération

Plusieurs examinateurs ont noté que le Comité consultatif n'avait pas reçu suffisamment de rapports de recherche sur ce sujet et ont appelé à une plus grande transparence sous la forme de rapports d'activités détaillés.

8 juillet 2010 : proposition soumise par VECTOR

1. Découverte d'antiviraux pour le traitement et la prévention de la variole

Les examinateurs ont fait quelques suggestions et formulé une demande :

- Les antiviraux candidats doivent être comparés aux antiviraux les plus efficaces contre la variole identifiés à ce jour, à savoir le ST-246[®] et le CMX001. L'accent doit être mis sur les nouveaux composés qui ont des cibles virales distinctes de celles précédemment trouvées.
- Quelques-uns des 90 composés à tester pourraient être écartés sur la base de leur toxicité connue ou probable chez l'homme.
- Le sous-comité et à terme l'ensemble du Comité doivent être informés des progrès réalisés dans les épreuves d'activité des composés *in vitro* contre le virus variolique avant de les tester chez des primates non humains au moyen de virus variolique vivant.

23 août 2010 : proposition soumise par La Trobe University, Australie

1. Élucider le mécanisme moléculaire qui sous-tend l'inhibition de l'apoptose par le virus variolique

La majorité des examinateurs ont estimé que ce type de recherche ne nécessitait pas l'approbation du sous-comité puisque ce travail n'implique en aucun cas l'utilisation de virus variolique vivant (ni d'aucun autre orthopoxvirus apparenté). Un examinateur s'est inquiété de l'attention que la publication d'un tel travail pourrait attirer ainsi que du malentendu que cela pourrait générer dans le public concernant ses conséquences. L'examineur a recommandé que cette proposition soit entièrement revue par le Comité avant d'être approuvée.

Le point sur les clones de virus variolique détenus au National Institute for Virology, Afrique du Sud

Robert Swanepoel

National Institute for Virology, Afrique du Sud

En 1979, l'Organisation mondiale de la Santé a certifié que la variole avait été éradiquée partout dans le monde et, le 8 mai 1980, la Trente-Troisième Assemblée mondiale de la Santé a publié une déclaration officielle à cet effet. Il a été conseillé aux États Membres de transférer leur stock de virus variolique dans l'un des deux conservatoires désignés par l'OMS, dont l'un était situé aux États-Unis d'Amérique et l'autre en Union soviétique (aujourd'hui Fédération de Russie). L'Afrique du Sud, qui avait été auparavant expulsée de l'OMS, a continué de détenir des stocks de virus variolique au National Institute for Virology (NIV).

Le 9 décembre 1983, le Ministre de la Santé d'Afrique du Sud a présidé le passage à l'autoclave et l'incinération ultérieure des stocks de virus variolique lors d'une cérémonie au NIV. Le Département de la Santé avait accepté de détruire les stocks de virus variolique à condition que des clones (fragments) d'ADN de virus variolique (matériel génétique), composés de la plus grande partie du génome du virus et qui avaient été préparés au Royaume-Uni pour l'OMS, seraient envoyés au NIV pour y être conservés. Ces clones pouvaient théoriquement être utilisés pour préparer les réactifs diagnostiques, mais ne pouvaient pas être réassemblés en virus entiers.

Les clones n'ont jamais été utilisés et, en octobre 2010, ils sont toujours stockés dans le BSL4 du National Institute for Communicable Diseases (NICD), successeur du NIV. Le Département de la Santé a désormais décidé de ne conserver que les clones potentiellement utiles pour produire des réactifs diagnostiques, ce qui ne représente pas plus de 20 % du génome du virus. Le reste sera transféré au conservatoire des Centers for Disease Control and Prevention d'Atlanta, États-Unis d'Amérique, ou, si ce dernier en possède des doubles, détruit sous la supervision de l'OMS.

« Analyse scientifique de la recherche sur le virus variolique, 1999-2010 » Chapitre 1 Vaccins antivarioliques

Antonio Alcami¹ et Bernard Moss²

¹ Centro de Biología Molecular Severo Ochoa (CSIC-UAM), Madrid, Espagne

² National Institute of Allergy and Infectious Diseases, National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, États-Unis d'Amérique

Importance pour la santé publique

La variole est la seule maladie de l'homme qui ait été éradiquée par une campagne mondiale de vaccination. Cette réalisation reste l'un des grands triomphes de la science médicale. Le vaccin antivariolique, qui est préparé à partir du virus de la vaccine vivant, a été très efficace. Toutefois, il a des antécédents de complications graves, en particulier chez les sujets présentant une immunodéficience ou un eczéma. De même, comme il a été préparé chez des animaux vivants dans des conditions non stériles, il ne satisferait pas aux lignes directrices actuelles relatives à la fabrication. Il y a donc pour la santé publique un intérêt certain à mettre au point un nouveau vaccin sûr et efficace.

Progrès réalisés à ce jour

Des vaccins antivarioliques préparés en cultures tissulaires ont été produits et homologués. Toutefois, ils sont susceptibles de provoquer un taux d'effets indésirables comparable à celui des vaccins originaux. De ce fait, plusieurs approches ont été adoptées pour produire des vaccins plus sûrs. C'est avec des souches de virus de la vaccine plus atténuées que les progrès ont été les plus importants – à savoir le virus de la vaccine Ankara modifié (MVA) et le LC16m8, préparés par des passages répétés en culture tissulaire. Le MVA est plus atténué que le LC16m8 ; en général, il est administré par voie intramusculaire ou sous-cutanée et, de ce fait, ne produit pas la lésion cutanée typique prouvant qu'il a bien « pris ». Le LC16m8 peut être administré par scarification, tout comme le vaccin antivariolique habituel, mais produit une réaction plus bénigne que le virus parental, à savoir le virus de la vaccine appartenant à la souche Lister. On a montré que le MVA et le LC16m8 étaient sûrs et permettaient d'obtenir une bonne immunogénicité chez les primates non humains, notamment une protection contre l'orthopoxvirus simien, étroitement apparenté au virus de la variole. Les vaccins de nouvelle génération préparés à partir de virus de la vaccine vivant ayant des mutations géniques spécifiques, de gènes de virus pox codant pour un ADN et de protéines purifiées ont tous montré qu'ils étaient prometteurs dans des modèles animaux, mais aucun n'a atteint le stade des essais cliniques.

Résultats et implications

L'homologation des vaccins antivarioliques préparés en culture tissulaire a été une avancée utile ; toutefois, le recours à ces vaccins serait médicalement contre-indiqué chez les sujets présentant une immunodéficience et certaines affections dermatologiques. Comme la variole a été éradiquée, l'efficacité des vaccins de nouvelle génération devra être testée à l'aide de virus pox apparentés au virus variolique dans des études de protection chez l'animal et des études d'innocuité et d'immunogénicité chez l'homme. Toutefois, on pourrait obtenir une meilleure confiance dans la capacité de ces vaccins à protéger contre la variole en utilisant du virus variolique vivant pour les épreuves de neutralisation *in vitro* et les études chez les primates non humains.

« Analyse scientifique de la recherche sur le virus variolique, 1999-2010 » Chapitre 2 Diagnostic au laboratoire

Inger Damon,¹ Hermann Meyer² et Sergei Shchelkunov³

¹ Poxvirus and Rabies Branch, Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, États-Unis d'Amérique

² Institut de Microbiologie du Bundeswehr, Munich, Allemagne

³ Département de la Recherche en Génomique, Centre de Recherche d'État en Virologie et Biotechnologie VECTOR, Koltsovo, région de Novossibirsk, Fédération de Russie

Importance pour la santé publique

Le virus variolique est le germe responsable de la variole, une maladie que l'Assemblée mondiale de la Santé a déclarée éradiquée en 1980. Ce virus est potentiellement considéré comme un agent de la guerre biologique ou comme une arme terroriste en raison de la forte morbidité et de la forte mortalité qu'il peut entraîner et parce qu'une grande partie de la population humaine y est désormais sensible suite à l'abandon presque général de la vaccination antivariolique systématique dans les années 1970 (Henderson et al., 1999).² Si l'on prend en compte les conséquences graves d'un diagnostic de variole, voire les conséquences d'une erreur de diagnostic, on a besoin de pouvoir identifier la variole sans aucune ambiguïté, rapidement et de manière fiable. Cela suppose une différenciation tout aussi fiable d'avec les autres entités cliniques comparables. La valeur prédictive d'un résultat diagnostique positif (à laquelle il est également fait référence en tant que valeur prédictive positive) est excessivement faible pour une maladie dont la prévalence est faible ; il faut donc adopter des stratégies diagnostiques qui permettent d'améliorer la valeur prédictive positive.

Progrès accomplis à ce jour

Entre 2000 et 2010, il y a eu des avancées remarquables dans les moyens de diagnostic clinique et de laboratoire mis au point pour la variole. Ce chapitre examine les méthodes historiques de diagnostic de la variole et résume les avancées obtenues dans les épreuves diagnostiques basées sur l'acide nucléique, les épreuves sérologiques et les épreuves de détection des protéines mises au point pour dépister la variole depuis 2000. Les technologies récentes ont guidé les approches adoptées par de nombreux chercheurs. Plus spécifiquement, les stratégies de détection de l'acide nucléique font de plus en plus appel à la PCR (amplification génique) en temps réel à haut rendement et, dans certains cas, aux puces à ADN.

Résultats et implications

De nombreux dosages basés sur les acides nucléiques ont été mis au point, mais seulement quelques techniques diagnostiques basées sur l'immunologie ou les protéines. Tous les dosages applicables aux virus variolique et pox, y compris ces nouvelles techniques, sont tirés de la recherche ; aucun n'a encore été soumis avec succès à l'examen réglementaire ni n'a suivi la procédure d'homologation. Au moment où l'on écrit ces lignes, la nécessité éventuelle d'avoir recours à du virus variolique vivant pour l'examen réglementaire des dosages est en discussion. On trouve un nécessaire de diagnostic basé sur l'acide nucléique dans le commerce ; cependant, il est uniquement destiné à la recherche et non à une utilisation diagnostique.

² Henderson DA et al. (1999). Smallpox as a biological weapon: medical and public health management. Working Group on Civilian Biodefense. *Journal of the American Medical Association*, 281: 2127-2137.

« Analyse scientifique de la recherche sur le virus variolique, 1999-2010 » Chapitre 3 Génomique du virus variolique

Grant McFadden,¹ David Evans,² Sergei Shchelkunov³ et Inger Damon⁴

¹ Department of Molecular Genetics and Microbiology, College of Medicine, University of Florida, Gainesville, États-Unis d'Amérique

² School of Clinical and Laboratory Sciences, Faculty of Medicine and Dentistry, University of Alberta, Edmonton, Alberta, Canada

³ Département de Recherche génomique, Centre de Recherche d'État en Virologie et Biotechnologie VECTOR, Koltsovo, région de Novossibirsk, Fédération de Russie

⁴ Poxvirus and Rabies Branch, Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, États-Unis d'Amérique

Importance pour la santé publique

Les nouvelles technologies ont radicalement amélioré notre compréhension de la génomique du virus variolique. Cela a conduit à de nouvelles façons de dépister et de diagnostiquer la variole et à mieux comprendre l'histoire de la variole au cours de l'évolution et les raisons de sa gravité. Toutefois, les nouvelles technologies de biosynthèse ont également créé des problèmes auxquels on n'avait pas pensé pour limiter l'accès au matériel génétique du virus variolique. Ce chapitre fournit un aperçu des dernières découvertes de la génomique du virus variolique et évoque la façon dont les nouvelles technologies de synthèse du génome pourraient mettre en échec les stratégies existantes de confinement du virus.

Progrès accomplis à ce jour

La séquence d'ADN complète de deux génomes de virus variolique étroitement apparentés a été publiée pour la première fois au début des années 1990. Suite à un programme de recherche accéléré sur la variole, approuvé par le Secrétariat de l'Organisation mondiale de la Santé (OMS) et débuté en 2000, le génome presque complet de 48 isolements de virus variolique géographiquement distincts est désormais disponible publiquement. Ces données peuvent être utilisées pour mieux comprendre l'évolution du virus variolique, mettre au point de meilleures épreuves diagnostiques et (à l'aide d'études biostructurales) donner une idée de la sensibilité des cibles des médicaments. En travaillant sur des gènes clonés du virus variolique, les chercheurs ont également réussi à mieux comprendre les interactions et l'activité de chacune des protéines du virus variolique, qui à leur tour ont fourni des indications importantes sur la façon dont le virus provoque la maladie chez l'homme.

Ce chapitre résume ce que l'on sait de la génomique du virus variolique et montre comment cela a été appliqué à l'étude de la parenté de ce virus avec d'autres virus pox des animaux, à l'étude de l'évolution du virus au cours des épidémies chez l'homme et à la mise au point d'épreuves diagnostiques. Ce chapitre évoque en outre l'utilisation future du matériel génomique du virus variolique à la lumière des nouvelles techniques de synthèse de l'ADN.

Résultats et implications

Les éléments du génome publiquement disponibles ont été utilisés par de nombreux scientifiques internationaux pour concevoir des épreuves diagnostiques extrêmement sensibles. Les nouvelles données sur les rapports entre le virus variolique et les autres orthopoxvirus sont également importantes pour comprendre l'intérêt et les limites des modèles animaux utilisés pour la variole humaine. Du fait du développement remarquable des techniques de synthèse, de séquençage et de clonage de l'ADN, il est désormais techniquement possible de synthétiser l'ensemble du génome du virus variolique en partant de rien, en se servant simplement des séquences disponibles

publiquement, et de reconstituer le virus infectieux à l'aide des techniques de la biologie moléculaire actuellement disponibles. Les stratégies de biodéfense future doivent donc incorporer une nouvelle réflexion sur la meilleure façon de contrôler l'application de ces techniques de synthèse biologique.

« Analyse scientifique de la recherche sur le virus variolique, 1999-2010 » Chapitre 4 Situation des conservatoires dans les centres collaborateurs de l'OMS

Evgeny Stavskiy,¹ Christine Hughes² et Inger K. Damon²

¹ Département de la Recherche génomique, Centre de Recherche d'État en Virologie et Biotechnologie VECTOR, Koltsovo, région de Novossibirsk, Fédération de Russie

² Poxvirus and Rabies Branch, Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, États-Unis d'Amérique

Ce chapitre fait un état des lieux (en janvier 2010) des stocks de virus variolique vivant (VARV), d'ADN du VARV, et – le cas échéant – de l'utilisation et de la distribution des fragments de gènes du VARV, conformément aux recommandations de l'Organisation mondiale de la Santé (OMS).

En 1976, alors que les efforts pour éradiquer la variole rencontraient toujours plus de succès, l'Unité d'Éradication de la variole de l'OMS a commencé à essayer de réduire le nombre de stocks de VARV détenus dans les laboratoires. De ce fait, le nombre de laboratoires rapportant qu'ils détenaient des stocks de VARV à la Commission mondiale pour l'Éradication de la Variole a diminué, passant de 75 à 7 en décembre 1979 et par la suite à 4 en 1981. Les stocks restants étaient situés en URSS, en Afrique du Sud, au Royaume-Uni et aux États-Unis d'Amérique.

En 1982, les stocks de VARV de Porton Down au Royaume-Uni ont été transférés aux États-Unis d'Amérique dans les Centers for Disease Control and Prevention (CDC) d'Atlanta, Géorgie. Les stocks de virus d'Afrique du Sud, qui ont été conservés au National Institute for Virology de Sandringham, ont été détruits en 1983 (même si l'Afrique du Sud détient toujours des fragments clonés de VARV non infectieux).

En mai 1996, la résolution WHA33.4 de l'Assemblée mondiale de la Santé a approuvé les recommandations relatives à la période suivant l'éradication de la variole. Cette résolution précisait que les stocks restants de VARV devaient être détenus dans un nombre limité de sites. Ce stock a été réduit depuis lors et est actuellement limité à deux laboratoires : le centre collaborateur de l'OMS pour la variole et les orthopoxviroses des CDC, et le centre collaborateur de l'OMS pour le diagnostic des orthopoxviroses et conservatoire des souches et de l'ADN du virus variolique du Centre de Recherche d'État en Virologie et Biotechnologie (SRC VB VECTOR) de Koltsovo, région de Novossibirsk, Fédération de Russie.

Les rapports annuels de ces deux laboratoires sont soumis au Secrétariat de l'OMS. Ils couvrent l'utilisation du VARV vivant et la situation des conservatoires. Depuis 2000, ces rapports ont également été exposés en personne lors des réunions annuelles du Comité consultatif OMS de la Recherche sur le Virus variolique, réunions qui sont convoquées pour examiner les travaux effectués avec du VARV vivant. Les résumés de ces communications sont disponibles en ligne via le site Web de l'OMS.³

³ <http://www.who.int/csr/disease/smallpox/research/en/index.html>.

« Analyse scientifique de la recherche sur le virus variolique, 1999-2010 » Chapitre 5 Modèles animaux et pathogénèse de la maladie

Peter B. Jahrling

Integrated Research Facility, National Institute of Allergy and Infectious Diseases, National Institutes of Health, Frederick, États-Unis d'Amérique

Importance pour la santé publique

Le potentiel d'exploitation du virus variolique comme arme bioterroriste est largement connu. En outre, la réémergence de l'orthopoxvirus simien en tant que préoccupation de santé publique en République démocratique du Congo a rendu encore plus urgente la mise au point de contre-mesures améliorées, notamment de vaccins et d'antiviraux contre ces orthopoxvirus. Comme il est généralement admis que les modèles animaux sont nécessaires pour démontrer l'efficacité de ces contre-mesures, ce chapitre est axé sur les modèles animaux utiles pour les orthopoxviroses.

Progrès accomplis à ce jour

Des modèles de petits animaux faisant appel au virus de l'ectromélie (cause de l'orthopoxvirose murine), au virus de l'orthopoxvirose bovine, au virus pox du lapin et au virus de la vaccine ont permis de mieux comprendre la pathogénèse et l'immunologie des infections à virus pox ; cette connaissance a été utilisée pour concevoir des études critiques sur des primates. Les modèles de primates avec virus variolique ou orthopoxvirus simien sont les plus utiles pour la mise au point de mesures sûres et efficaces contre la variole humaine.

Défis actuels

Diverses combinaisons de doses de virus variolique et de voies d'exposition des primates (singes cynomolgus) ont conduit à définir des caractéristiques prévisibles de la maladie qui reproduisent certaines des caractéristiques de la variole humaine, mais pas toutes. Bien que les modèles doivent être encore affinés, ils ont été suffisants pour démontrer l'efficacité de plusieurs antiviraux candidats, notamment du cidofovir et du ST-246[®]. Il est probable qu'aucune combinaison unique de conditions ne nous permettra d'obtenir un modèle qui satisfera simultanément à tous les critères requis par l'« *Animal Rule* » (US 21CFR310.610) de la Food and Drug Administration des États-Unis d'Amérique ; il faudra peut-être différents modèles pour évaluer différentes indications. L'amélioration des modèles de primates pourrait faire appel à des données physiopathologiques provenant d'études utilisant la télémétrie et l'imagerie médicale. Une attention particulière doit également être accordée à la recherche de biomarqueurs qui pourraient être utilisés en clinique comme déclencheurs d'une intervention précoce, accroissant ainsi la probabilité de succès de l'intervention et facilitant l'homologation des contre-mesures. Bien qu'une grande partie de ce travail de recherche-développement puisse être accomplie à l'aide d'orthopoxvirus de substitution chez les rongeurs et les primates, on ne pourra obtenir une confiance accrue dans la riposte contre la variole que si des épreuves d'efficacité chez des modèles de primates sont effectuées à l'aide du virus variolique.

« Analyse scientifique de la recherche sur le virus variolique, 1999-2010 » Chapitre 6 Développement d'antiviraux pour le traitement de la variole

John W. Huggins¹ et Nina Tikunova²

¹ United States Army Medical Research Institute of Infectious Diseases, Fort Detrick, États-Unis d'Amérique

² Centre de Recherche d'État en Virologie et Biotechnologie VECTOR, Koltsovo, région de Novossibirsk, Fédération de Russie

Importance pour la santé publique

Il est extrêmement peu probable qu'une vaccination étendue contre la variole soit pratiquée avant que ne se produise une flambée de cette maladie à cause des manifestations graves et parfois mortelles associées aux vaccins antivarioliques actuels. Par conséquent, si la variole devait réémerger, il pourrait être nécessaire de traiter un grand nombre de cas au moyen d'un antiviral avant que les campagnes de vaccination de masse aient le temps de conférer une immunité protectrice suffisante.

Auparavant, les mesures de lutte contre la variole reposaient exclusivement sur la vaccination et le traitement de soutien prodigué aux sujets infectés, qui pouvaient avoir 30 % de chances de décéder suite à cette infection. Toutefois, l'expérience de la lutte contre l'épidémie actuelle de grippe H1N1 a montré que les vaccins et les antiviraux pouvaient être importants dans le cadre de la riposte de santé publique, aussi bien pour lutter contre la flambée que pour réduire la mortalité chez les sujets infectés.

Le projet décrit dans ce chapitre a été entrepris pour obtenir l'homologation de deux antiviraux pour voie orale ayant des mécanismes d'action différents et destinés au traitement des cas cliniques de variole. Ces médicaments doivent avoir été homologués par les organismes de réglementation pharmaceutique si l'on veut pouvoir les utiliser au cours d'une flambée. Une telle homologation fournit également des données convaincantes de l'efficacité de ces médicaments, qui seront nécessaires aux responsables de la santé publique qui élaborent les stratégies de lutte. Parce que la variole, maladie due au virus variolique, a été éradiquée par la vaccination de masse, l'efficacité de ces médicaments ne peut être démontrée qu'à l'aide de modèles animaux de primates non humains infectés expérimentalement par le virus variolique.

Progrès accomplis à ce jour

Le développement de n'importe quelle thérapeutique antivirale est un processus long et difficile, qui s'est souvent soldé par des échecs pour de nombreuses infections virales, notamment le rhume commun. Concernant la variole, des progrès considérables ont été réalisés dès les débuts de la recherche des médicaments et un certain nombre de candidats potentiels doivent être évalués chez les modèles animaux.

Trois composés – le cidofovir, le ST-246[®] et le CMX001 – qui inhibent la réplication du virus variolique en culture cellulaire et chez de multiples modèles animaux (modèles à orthopoxvirus de substitution) ont acquis le statut d'« investigational new drug (IND) » de la Food and Drug Administration (FDA) des États-Unis d'Amérique pour le traitement des orthopoxviroses. Les premières études chez l'homme sont en cours. Deux de ces composés (le cidofovir et le ST-246[®]) ont fait la preuve d'une activité chez un modèle de virus variolique létal pour les primates et le

troisième est un promédicament du cidofovir qui peut être administré par voie orale. Le développement du ST-246[®] et du CMX001 est en cours, et ces deux antiviraux font l'objet d'essais cliniques.

Travaux complémentaires nécessitant du virus variolique vivant pour obtenir un antiviral homologué pour le traitement de la variole

Bien que les résultats obtenus à ce jour soient prometteurs, la vaste expérience qu'a l'industrie du développement des médicaments laisse à penser que moins de 35 % des composés faisant l'objet d'essais d'innocuité étendus (phase II de la FDA) seront homologués. Le processus consistant à passer du stade de l'IND à celui de la NDA prend en moyenne 5 à 7 ans. Comme le virus variolique a été éradiqué dans les populations humaines, il est impossible de procéder aux essais d'efficacité clinique classiques. En outre, il n'est pas possible d'effectuer des essais cliniques chez l'homme pour des raisons éthiques de sorte que la mise en évidence de l'efficacité doit faire appel à l'« *Animal Rule* » (US 21CFR310.610) de la FDA. Étant donné les incertitudes inhérentes à cette « *Animal Rule* » et le fait qu'aucun antiviral n'est actuellement homologué pour aucun type d'indication (traitement ou chimioprophylaxie) s'agissant de la variole, il est difficile d'estimer le temps ou les données nécessaires pour obtenir cette homologation ; les données doivent comprendre les résultats des travaux sur le virus variolique, mais ne pas se limiter à ces derniers. Le sérieux des examens et le passage au crible scientifique des études sur des modèles animaux proposées à l'appui des indications dans le cadre de l'« *Animal Rule* » seront les mêmes que pour les essais cliniques réalisés chez l'homme en vue d'obtenir l'homologation de produits pour d'autres types d'indications et par d'autres filières.

En dehors des États-Unis d'Amérique, l'homologation est associée à au moins autant d'incertitudes. On pourrait avancer que les travaux sur le virus variolique vivant devraient pouvoir se poursuivre jusqu'à ce qu'un nombre suffisant de médicaments, ayant des mécanismes d'action différents, aient obtenu leur homologation et puissent être utilisés partout dans le monde pour combattre les flambées de variole.

Un rapport de l'Institute of Medicine of the National Academies, intitulé *Live variola virus considerations for continuing research*, indique en conclusion que la raison la plus pressante pour conserver pendant longtemps des stocks de virus variolique vivant est leur rôle essentiel dans l'identification et le développement d'antiviraux pouvant être utilisés en cas de flambée importante de variole.

Le Groupe consultatif d'experts indépendants chargé de l'examen du programme de recherche sur la variole : observations relatives à l'*Analyse scientifique de la recherche sur le virus variolique, 1999-2010*

Tania Sorrell et Rakesh Aggarwal au nom du Groupe

Le Groupe consultatif d'experts indépendants a estimé que l'*Analyse scientifique de la recherche sur le virus variolique, 1999-2010* était rédigé de façon claire, très complet, et offrait un examen précis et actualisé de la recherche sur le virus variolique, notamment des effets des restrictions réglementaires sur la recherche actuelle et future.

Le rapport complet se présente en trois parties conformément à ce qui avait été demandé au Groupe consultatif d'experts indépendants.

Dans la partie 1, on trouvera un résumé de chaque chapitre de l'analyse scientifique, suivi d'observations particulières. La partie 2 renferme les recommandations du Comité relatives aux recherches à venir et des observations sur les conservatoires de virus variolique. Enfin, la partie 3 résume les recommandations du Groupe d'experts relatives aux normes de sécurité élevées à garantir pour se prémunir contre une réémergence de la variole.

Recommandations relatives à la recherche à venir et à l'utilisation du virus variolique vivant

Partie 1 : Génomique, épreuves diagnostiques et conservatoires

Génomique

On dispose de séquences génomiques presque complètes pour environ 50 isollements de virus variolique. Comme le génome de ce virus n'a qu'une diversité génomique limitée et montre des homologies importantes avec le génome d'autres orthopoxvirus, le Groupe estime que, du point de vue de la santé publique, il n'est pas nécessaire de séquencer d'autres isollements de virus variolique.

Épreuves diagnostiques

Plusieurs épreuves basées sur l'acide nucléique ont été mises au point. Certaines ont fait appel à des éléments de l'ADN du virus variolique clonés ou synthétisés pour l'évaluation et la mise au point d'épreuves, d'autres ont utilisé de l'ADN génomique intact ; certaines se sont servies d'ADN variolique cloné comme témoin positif. Leur mise au point ultérieure ne nécessite pas l'utilisation de virus variolique vivant.

En l'absence de maladie clinique, il n'est pas possible de déterminer la sensibilité, la spécificité, la valeur prédictive positive et négative de ces épreuves en situation clinique. On a besoin d'une validation réglementaire de ces épreuves. Il faudrait comparer ces épreuves les unes avec les autres et optimiser au mieux celles dont on dispose, surtout la PCR en temps réel et la technique des microplaques. On développera de nouvelles épreuves au fur et à mesure des progrès de la technologie diagnostique.

Plusieurs épreuves sérologiques sont disponibles pour la détection des anticorps anti-orthopoxvirus. Les épreuves de capture d'antigènes en sont à leurs tout débuts ; à ce jour, ce sont des épreuves génériques pour les orthopoxvirus et aucune n'est spécifique de la variole. Le fait de les comparer les unes avec les autres pourrait également être instructif. Les efforts visant à améliorer leurs

résultats sont justifiés ; de nouvelles épreuves pourront être mises au point au fur et à mesure des progrès enregistrés dans la technologie diagnostique.

Virus variolique vivant

Le Groupe considère que le virus variolique vivant n'est pas nécessaire pour la mise au point ultérieure des épreuves diagnostiques, pas plus qu'il ne l'est pour la validation de dosages techniques.

Conservatoires

Voir partie 3. Questions relatives à la sécurité.

Partie 2 : Vaccins, modèles animaux et médicaments – recherche future et nécessité du virus variolique vivant

Vaccins

Le Groupe pense qu'il faut continuer d'essayer de mettre au point des vaccins plus sûrs et au moins aussi efficaces que les vaccins antivarioliques homologués d'origine et/ou existants.

Pour se préparer à une flambée potentielle de variole, il faut élaborer des stratégies de vaccination thérapeutique efficaces, par exemple la vaccination après exposition ou l'administration d'immunoglobulines et/ou d'anticorps monoclonaux anti-vaccin. Ces stratégies devraient aider à raccourcir le délai de riposte des systèmes de santé publique en cas de flambée. En outre, la vaccination passive pourrait diminuer les effets indésirables des vaccins disponibles dans des sous-groupes particuliers.

Modèles animaux

Les modèles de la variole chez les animaux ne peuvent exactement modéliser la variole humaine, pas plus que ne le peut l'infection naturelle à virus pox chez les animaux.

Bien que les modèles actuels de primates non humains utilisant du virus variolique soient sous-optimaux, les recherches effectuées au cours de la dernière décennie pour les améliorer ont remporté des succès limités. Le seul but des tentatives de mise au point de ces modèles est de satisfaire aux normes réglementaires actuelles strictes, en l'absence d'infection par le virus variolique chez l'homme. Le Groupe pense qu'il serait plus productif de réexaminer les normes réglementaires applicables aux vaccins et aux médicaments contre la variole étant donné que l'homme n'est plus infecté par ce virus.

Par conséquent, le Groupe recommande que, plutôt que de mettre au point des modèles animaux utilisant du virus variolique, la recherche devrait se concentrer sur l'amélioration des modèles de substitution que sont les autres orthopoxvirus chez leurs hôtes naturels (par exemple orthopoxvirus simien, orthopoxvirus bovin, virus pox du lapin, orthopoxvirus murin, infections chez les modèles de primates non humains, de lapins et de rongeurs).

Ces modèles permettraient des études sur la pathogenèse de l'infection à virus pox, l'analyse de l'efficacité des médicaments et des vaccins et l'établissement de critères pour évaluer la protection.

Médicaments

Deux médicaments antivarioliques, à savoir le cidofovir et le ST-246[®] en sont à des stades avancés de développement. Une résistance à chacun de ces médicaments a été décrite *in vitro*, mais on

ignore quel est le risque de résistance induite par le traitement *in vivo*. Le Groupe recommande que si l'ACVVR estime que le développement d'une résistance *in vivo* est une possibilité non négligeable, d'autres médicaments ayant des mécanismes d'action antivirale différents soient mis au point. Toutefois, dans un premier temps, les efforts doivent être principalement axés sur le cidofovir et le ST-246[®].

Virus variolique vivant

À l'heure actuelle, en partant du principe que les problèmes réglementaires relatifs à l'essai des vaccins et des médicaments soient résolus, la seule indication pour laquelle on a besoin du virus variolique vivant est de tester l'efficacité des médicaments *in vitro*.

Partie 3 : Questions relatives à la sécurité

Politiques de surveillance du confinement

Il faut poursuivre l'examen rigoureux et régulier des pratiques d'assurance-qualité et de confinement du Centre de Recherche d'État en Virologie et Biotechnologie (SRC VB VECTOR) de la Fédération de Russie et des Centers for Disease Control and Prevention (CDC) des États-Unis d'Amérique.

Virus variolique obtenu par génie génétique, mutants du virus variolique ou virus pox renfermant des parties du génome du virus variolique.

Le Groupe a formulé les recommandations suivantes.

Il faut définir de nouvelles stratégies pour faire face à la synthèse potentielle de virus variolique vivant *de novo*, notamment par l'adoption de politiques nationales relatives à ce problème par les États Membres de l'OMS. Il est recommandé que les propositions récentes en matière de biosécurité (Bügl et al., 2007)⁴ soient prises en compte au niveau de la prise de décision nationale.

L'Organisation mondiale de la Santé doit s'efforcer d'obtenir de tous les pays une validation actualisée de leurs stocks d'ADN du virus variolique (sous diverses formes, par exemple fragments, amplicons et/ou plasmides).

En ce qui concerne l'interdiction actuelle faite aux laboratoires autres que les deux centres collaborateurs de l'OMS conservant plus de 20 % du génome du virus variolique de conserver ce génome, il est recommandé que les CDC et VECTOR fournissent à l'OMS une documentation précisant quels segments d'ADN ont été distribués à quels laboratoires. On cherchera également à savoir si le génome complet a été distribué (ou devrait l'être) à une série de laboratoires, même si c'est sous forme de différents segments de gènes englobant moins de 20 % du génome.

⁴ Bügl H et al. (2007). DNA synthesis and biological security. *Nature Biotechnology*, 25: 627-629.

Le sous-comité pour la création d'un réseau de laboratoires de la variole

Jean-Claude Piffaretti

Interlifescience, Massagono, Suisse

On a réuni un sous-comité pour évoquer la création d'un réseau mondial OMS de laboratoires de diagnostic de haut niveau, le réseau des laboratoires de la variole, qui disposerait des moyens voulus pour dépister rapidement et de façon fiable toute émergence d'un virus variolique. Le but de ce réseau serait d'alerter l'OMS aussi vite que possible en cas d'événement grave lié à une réémergence possible de la variole. Le sous-comité comprend actuellement des représentants des deux laboratoires de référence (CDC et VECTOR) et de chacune des Régions de l'OMS.

Le domaine de compétence de ce réseau de laboratoires de la variole est actuellement en cours de définition. Il engloberait les deux laboratoires de référence et jusqu'à deux laboratoires régionaux dans chacune des Régions de l'OMS. Les laboratoires régionaux auraient les moyens d'effectuer une identification rapide et fiable du virus variolique en n'utilisant que des techniques moléculaires basées sur l'analyse de l'ADN. Les deux laboratoires de référence font déjà des cultures de virus variolique et ont les moyens d'entreprendre des méthodes diagnostiques connexes, notamment le typage des souches virales de la variole. Ils feraient les épreuves diagnostiques finales de confirmation de la présence de virus varioliques et conserveraient les souches virales identifiées dans leurs conservatoires.

Un laboratoire régional candidat devra remplir un certain nombre de critères liés à la compétence, à la sûreté et à la sécurité biologiques pour pouvoir faire partie du réseau. Ces critères seront les suivants :

- une activité diagnostique régulière en virologie médicale et l'application des techniques moléculaires, notamment de la PCR en temps réel ;
- une participation régulière et de bons résultats aux tests de compétence, notamment à ceux organisés par l'OMS avec les laboratoires de référence pour les orthopoxvirus/virus de la variole ;
- un accès contrôlé à un laboratoire de sécurité biologique de niveau 3 renforcé ;
- de bons résultats lors de l'inspection d'un comité ad hoc de l'OMS ;
- la capacité à traiter rapidement les échantillons en une période de temps limitée (par exemple dans les 8 heures suivant l'alerte) ;
- un personnel préalablement vacciné, etc.

Le réseau de laboratoires de la variole serait coordonné par un comité d'orientation composé des représentants de chacun des laboratoires du réseau ainsi que d'un représentant du Secrétariat de l'OMS. Ce comité d'orientation aurait pour missions :

- d'organiser les activités du réseau de laboratoires ;
- d'établir et d'approuver les procédures à suivre par les laboratoires, en particulier celles liées à l'acceptation et à l'inactivation des échantillons, ainsi que les méthodes diagnostiques employées ;
- de vérifier régulièrement que les procédures et méthodes ci-dessus sont mises à jour afin de tenir compte des progrès scientifiques ;
- de vérifier régulièrement que les laboratoires régionaux continuent de satisfaire aux critères ;
- de vérifier les résultats des tests de compétence ;

- de fournir un soutien aux laboratoires régionaux, le cas échéant.

Il est admis que certains États Membres peuvent avoir un ou plusieurs laboratoires tout à fait compétents qui ont été autorisés par leur gouvernement à procéder au diagnostic moléculaire de la variole. Ces laboratoires doivent être notifiés au Secrétariat de l'OMS et devraient être autorisés à communiquer directement avec les laboratoires de référence et avec le Secrétariat.

Il a été proposé que le réseau de laboratoires de la variole soit à terme englobé dans un réseau plus général de laboratoires de diagnostic en application du RSI (Règlement sanitaire international).

Utilisation du virus variolique vivant afin d'entretenir et de régénérer des matériels non infectieux dérivés du virus variolique à l'appui du développement diagnostique

Chercheurs : **Inger Damon, Kevin Karem, Victoria Olson**

Centre collaborateur OMS pour la variole et les autres orthopoxviroses, Atlanta, GA, États-Unis d'Amérique

Importance pour la santé publique

L'aptitude à valider des moyens diagnostiques fondés sur l'analyse de l'acide nucléique ou des protéines est essentielle pour le dépistage et la reconnaissance précoces de la variole si la réintroduction de cette dernière devient une réalité. Les conséquences des résultats faussement négatifs ou faussement positifs pourraient entraîner des retards importants et des erreurs dans la riposte de santé publique à une flambée de variole. C'est pourquoi il reste nécessaire de conserver des stocks d'ADN et d'antigène variolique pour poursuivre les recherches conformément aux protocoles approuvés par l'Organisation mondiale de la Santé (OMS).

Au fil des recherches menées avec l'accord de l'OMS, les stocks d'ADN variolique ont progressivement diminué. Ces derniers ont été utilisés pour évaluer divers dosages diagnostiques basés sur l'analyse de l'acide nucléique en vue de leur validation et pour des tests de compétence avec des partenaires du monde entier. Ce matériel non infectieux, qui est représentatif de ce que l'on pourrait extraire d'un isolement clinique, est précieux pour valider les diagnostics fondés sur l'analyse de l'acide nucléique. Bien qu'on puisse utiliser comme témoins positifs internes des plasmides exprimant les portions d'ADN cibles considérées, la validation des dosages est nettement plus fiable lorsque l'on utilise des matériels aussi proches que possible de l'isolement clinique authentique. Pour les analyses de sensibilité, l'utilisation de l'ADN viral extrait de virions purifiés permet un calcul du niveau de détection. Ces matériels continueront d'être utilisés pour valider les dosages de dépistage ainsi que les diagnostics cliniques chez l'homme. En outre, le matériel non infectieux est également nécessaire pour tester les dosages diagnostiques basés sur l'analyse de protéines dans les recherches sur la phase préliminaire de l'infection.

Méthodes

Tous les travaux faisant intervenir du virus variolique vivant sont effectués dans le laboratoire de sécurité biologique de niveau 4, conformément au mandat du centre collaborateur OMS pour la variole et les autres orthopoxviroses des Centers for Disease Control and Prevention d'Atlanta, États-Unis d'Amérique. Cet établissement est soumis à des inspections de sécurité et de sûreté biologiques fréquentes par des équipes indépendantes des États-Unis d'Amérique et de l'OMS. Toute utilisation d'ADN ou d'antigène variolique en dehors du laboratoire de sécurité biologique de niveau 4 exige l'inactivation du virus. Le virus variolique est inactivé avant l'extraction de l'acide nucléique par des méthodes de cycles thermiques ou de lyse. Le matériel destiné à la préparation d'antigènes est inactivé par irradiation gamma.

Résultats

Épreuves diagnostiques basées sur l'analyse de l'ADN

Pour pouvoir évaluer en détail les épreuves diagnostiques basées sur l'analyse de l'acide nucléique, une collection complète d'ADN isolés chez des virus proches doit être évaluée afin de valider la

spécificité. On a montré qu'un orthopoxvirus, le virus pox de la vache, a une diversité phylogénétique étendue – à partir d'une analyse de séquence limitée. Plusieurs nouveaux isollements de virus pox de la vache récemment obtenus ont, de façon surprenante, présenté des réactions croisées avec une signature spécifique de la variole précédemment validée lors de la PCR en temps réel.

Épreuves diagnostiques basées sur l'analyse des protéines

Une lignée d'hybridomes d'un anticorps monoclonal de la souris a une réactivité spécifique vis-à-vis du virus variolique. Toutefois, on s'est aperçu que cette réactivité était fortement biaisée en faveur de l'antigène irradié par les rayons gamma par comparaison avec l'antigène du virus variolique vivant. Cette variation de réactivité était spécifique de la méthode d'inactivation par les rayons gamma puisque les méthodes d'inactivation à la chaleur, par les UV ou le formol ont montré une réactivité inférieure (comparable à celle de l'antigène du virus variolique vivant) à celle de l'antigène du virus variolique irradié par les rayons gamma.

Discussion/orientations futures

Malgré le fait que la cible spécifique de la variole ait été créée au sein d'un gène hautement conservé, on s'est aperçu que cette région n'était pas propre au virus variolique, une séquence analogue ayant été également trouvée dans l'orthopoxvirus bovin, pathogène pour l'homme. Les signatures spécifiques de la variole retrouvées dans d'autres dosages diagnostiques publiés sont actuellement comparées aux données bioinformatiques afin de déterminer si elles conservent leur spécificité basée sur ces séquences de l'orthopoxvirus bovin nouvellement acquises. La possibilité qu'un dosage spécifique du virus variolique montre une réaction croisée avec son voisin proche, l'orthopoxvirus bovin, augmente de manière spectaculaire la probabilité d'avoir des résultats faussement positifs, ce qui pourrait conduire à une grave détérioration de l'infrastructure de santé publique. Les travaux futurs généreront davantage de données bioinformatiques en séquençant l'ADN génomique d'autres virus proches et en évaluant les nouvelles signatures à la recherche d'une spécificité contre une plus grande collection d'ADN du virus variolique, de virus très proches et d'autres germes pathogènes provoquant des rashes cutanés. Ensemble, ces données permettront d'obtenir la PCR en temps réel la plus spécifique et la plus sensible possible pour le dépistage fiable du virus variolique.

En ce qui concerne la recherche fondée sur l'analyse des protéines, on a débuté des études de « criblage » à la recherche d'épitopes d'antigènes dans l'espoir de trouver l'épitope reconnu par l'anticorps monoclonal spécifique de la variole. Un autre projet de criblage a débuté afin d'évaluer des hybridomes congelés (obtenus précédemment) à la recherche de nouveaux anticorps monoclonaux candidats. Les expériences continuent de produire une banque de protéines de la variole qui sont utilisées dans les analyses sur microplaques. Les réactifs résultant de ces études bénéficieront au bout du compte de la confirmation des résultats obtenus avec le virus variolique vivant. Ces efforts suivis fourniront des possibilités de dépistage viral à partir des protéines et des tests sérologiques permettant d'améliorer le dépistage des orthopoxvirus.

Le point sur la situation actuelle de la collection de souches de virus variolique et sur la recherche d'antiviraux contre la variole

Evgeny Stavskiy et Sergei Shchelkunov

Département de la Recherche génomique, Centre de Recherche d'État en Virologie et Biotechnologie VECTOR, Koltsovo, région de Novossibirsk, Fédération de Russie

Centre collaborateur OMS pour le diagnostic des orthopoxviroses et conservatoire des souches et de l'ADN du virus variolique, Koltsovo, région de Novossibirsk, Russie

Selon un inventaire des stocks, la collection russe de souches de virus variolique renferme :

- des cultures lyophilisées et congelées – 120 souches ;
- 17 échantillons primaires isolés chez des sujets humains dans le passé ;
- un nombre total d'unités conservées enregistrées de 691.

En 2010, les travaux sur le virus variolique se sont poursuivis comme suit :

- les flacons de verre renfermant des virus et conservés congelés ont été remplacés par des flacons cryogéniques en polypropylène munis d'étiquettes imprimées résistantes aux solutions désinfectantes. Ce remplacement a été effectué de façon à améliorer la sécurité en cours de conservation et lors des manipulations ;
- analyse des propriétés antivirales de composés ayant précédemment montré une efficacité antivirale contre d'autres orthopoxvirus ;
- analyse des propriétés neutralisantes de mini-anticorps ayant précédemment montré une activité neutralisante contre d'autres orthopoxvirus.

Toutes les cultures de virus variolique précédemment conservées dans des flacons de verre ont désormais été transvasées dans des flacons cryogéniques en polypropylène.

Près de 90 composés chimiques appartenant à différentes classes (dérivés hétérocycliques, dérivés nucléosidiques, dérivés de l'adamantane, etc.) ont été étudiés. Les plus prometteurs d'entre eux ont été soumis à un cycle complet de tests *in vitro* et *in vivo* effectués avec des virus de substitution (virus de la vaccine, orthopoxvirus bovin et virus de l'ectromélie murine). Des résultats de ces tests, les 31 composés chimiques les plus prometteurs ont été sélectionnés pour une recherche approfondie *in vitro* afin d'évaluer la présence d'une activité antivirale contre quatre souches de virus variolique ayant différents degrés de virulence (6-58, Ind-3a, Congo-9 et Butler). Quatre composés synthétisés par l'Institut de Chimie organique de Novossibirsk appartenant à la branche sibérienne de l'Académie des Sciences russe ont montré l'activité antivariolique la plus importante.

Une collection d'anticorps humains simple chaîne précédemment et nouvellement synthétisés contre les orthopoxvirus a été testée pour voir s'ils étaient capables d'inhiber le pouvoir infectant du virus variolique. La présence de propriétés neutralisantes a été recherchée à l'aide d'épreuves de séro-neutralisation par réduction des plages dans des cultures de virus variolique en cellules eucaryotes Vero. Des anticorps monoclonaux murins 2D5 ont servi de témoins positifs. L'étude a été effectuée à un titre constant (250 UFP/ml) de virus variolique de la souche Ind-3a. Les résultats ont montré que quatre des sept anticorps simple chaîne humains étudiés étaient capables de neutraliser le pouvoir infectant du virus variolique.

La collection de virus varioliques est désormais conservée de façon permanente dans le nouveau conservatoire du laboratoire du centre collaborateur de l'OMS destiné à la recherche sur le virus variolique. Ce conservatoire est équipé d'une série complète de systèmes de sécurité physique ainsi que d'alarmes et d'avertisseurs d'incendie.

L'utilisation du virus variolique vivant pour évaluer les antiviraux

Inger Damon, Kevin Karem, Victoria Olson

Centre collaborateur OMS pour la variole et les autres orthopoxviroses, Atlanta, GA, Etats-Unis d'Amérique

Autres collaborateurs extérieurs : Jeffrey Langland, Mark Prichard, Michele Barry

Importance pour la santé publique

Le premier objectif de la préparation au risque de bioterrorisme lié à la variole est de sauver des vies si d'une façon ou d'une autre la variole réémergeait. Le fait de disposer de médicaments contre la variole présenterait des avantages importants au cours d'une flambée, en permettant d'administrer un traitement après exposition. Une étude effectuée par Stittelaar et al., publiée dans *Nature* le 11 décembre 2005, décrivait une infection intratrachéale létale par l'orthopoxvirus simien et démontrait que le traitement par un antiviral au moment de l'infection était protecteur, tandis que la vaccination ne l'était pas. Ces résultats semblent remettre en question les données limitées, rassemblées pendant la phase d'éradication de la variole, relatives à l'efficacité de la vaccination administrée jusqu'à 4 jours après l'exposition pour prévenir la maladie. Le point de vue actuel est de mettre l'accent sur la nécessité de disposer de deux antiviraux ayant des mécanismes d'action distincts, qui soient homologués et prêts à l'emploi. On souhaite des composés ciblant spécifiquement des protéines virales, des processus viraux ou des fonctions cellulaires dont a besoin le virus mais qui ne sont pas essentiels pour l'hôte humain. L'évaluation de ces substances exige la caractérisation *in vitro* et/ou chez des modèles animaux de leur activité contre une infection par le virus variolique vivant. À ce jour, plusieurs produits se sont avérés prometteurs en agissant sur des cibles cellulaires de l'hôte pour inhiber la réplication virale, ou en ciblant directement des protéines virales nécessaires à la réplication et à la maturation du virus. La mise au point de ces produits exige de les tester en présence du virus variolique vivant pour les évaluer et garantir un effet direct et l'efficacité de ces composés.

Méthodes

Toutes les recherches faisant intervenir du virus variolique vivant sont effectuées dans le laboratoire de sécurité biologique de niveau 4 conformément au mandat du centre collaborateur OMS pour la variole et les autres orthopoxviroses des Centers for Disease Control and Prevention d'Atlanta, Etats-Unis d'Amérique. Cet établissement est soumis à des inspections de sécurité et de sûreté biologiques fréquentes par des équipes indépendantes des Etats-Unis d'Amérique et de l'OMS.

Résultats

Évaluation des inhibiteurs de la tyrosine kinase

Les travaux effectués antérieurement sur l'orthopoxvirus de la vaccine laissaient à penser que certaines familles de tyrosines kinases cellulaires sont impliquées dans le phénomène de sortie des virus hors de la cellule infectée. Plusieurs composés inhibent une famille de tyrosines kinases cellulaires ou les deux (Abl- et Src-) et sont actuellement utilisés pour le traitement de la leucémie myéloïde chronique et des tumeurs à stroma. La quantification de la production de virus enveloppés extracellulaires et de virions matures en présence des inhibiteurs des tyrosines kinases a confirmé que ces derniers inhibent spécifiquement la production/la libération des virus enveloppés extracellulaires. Il est essentiel de comprendre le mécanisme d'action de ces agents thérapeutiques potentiels, non seulement pour la sécurité des patients mais aussi pour pouvoir concevoir une

thérapeutique future. Le virus de la variole et l'orthopoxvirus simien sortent des cellules à l'aide de queues d'actine, comme on l'a vu pour le virus de la vaccine. En outre, les médicaments homologués et leurs dérivés ont empêché la sortie de virus enveloppés extracellulaires, qu'il s'agisse des orthopoxvirus simiens ou varioliques. Au cours d'une infection à orthopoxvirus, les tyrosines kinases cellulaires sont nécessaires pour la libération et la propagation efficaces des virus enveloppés extracellulaires ; les tyrosines kinases de la famille Src sont nécessaires pour la formation des queues d'actine, tandis que celles de la famille Abl servent à la libération des virus enveloppés extracellulaires. Nos données font de ces tyrosines kinases cellulaires des cibles viables pour des agents thérapeutiques, et leur publication dans le *Journal of Virology* a récemment été acceptée. Comme ces substances thérapeutiques ciblent des protéines cellulaires, il est peu probable que cette stratégie engendre une résistance virale.

Évaluation d'un remède à base de plantes contre la variole

Les équipes de recherche du laboratoire Jeffrey Langland ont récemment « redécouvert » une plante carnivore ayant une activité anti-orthopoxvirus. Il existe de nombreux rapports historiques faisant état d'un traitement réussi au moyen de cet extrait botanique lors de flambées de variole survenues sur le continent nord-américain. Le groupe de Langland a démontré que cet extrait inhibe bien la réplication virale de divers orthopoxvirus ainsi que les effets cytopathiques qu'ils induisent. Aux doses auxquelles la réplication a été inhibée, la toxicité cellulaire observée a été faible ou inexistante. Au début, la réplication virale a été bloquée mais, peu après, une réplication partielle a été observée, probablement en raison de la dégradation ou de l'utilisation des composants actifs présents dans l'extrait. Cependant, le traitement des cellules à l'aide d'extrait frais toutes les six heures a complètement aboli la réplication virale. L'extrait inhibe efficacement la réplication des orthopoxvirus simien, de la vaccine et de la variole en agissant au stade de la transcription précoce. L'effet inhibiteur est spécifique aux orthopoxvirus et n'a pas eu beaucoup d'effet sur la réplication des autres virus testés. Enfin, les autres remèdes à base de plantes testés n'ont eu aucun effet sur la réplication du virus de la vaccine. Cette activité contre les orthopoxvirus indique le potentiel de ce remède comme agent thérapeutique.

Discussion/orientations futures

Les travaux futurs seront axés sur la caractérisation plus complète de l'extrait : identification de la substance active (qui peut nécessiter une évaluation antivariolique complémentaire) et son efficacité chez un modèle animal d'orthopoxvirose systémique.

Il existe d'autres composés intéressants ayant un potentiel antivariolique qu'il faudrait évaluer ; deux nouvelles classes d'antiviraux (4'-thiodésoxyribonucléosides substitués en position 5, inhibiteurs de protéosome) se sont avérées prometteuses contre d'autres orthopoxvirus, comme celui de la vaccine et le virus pox de la vache. L'utilisation du virus variolique vivant pour déterminer l'efficacité de ces composés *in vitro* permet potentiellement d'identifier des agents antiviraux ayant des mécanismes d'action uniques aux différents stades du cycle évolutif du virus.

Perspectives de mise au point de modèles de primates permettant d'évaluer les contre-mesures antivarioliques et anti-orthopoxvirus simien chez l'homme

Peter Jahrling

Integrated Research Facility, National Institute of Allergy and Infectious Diseases, National Institutes of Health, Frederick, États-Unis d'Amérique.

Depuis 1999, on a progressé dans la mise au point de modèles animaux, mais il faut souligner qu'il n'existe toujours pas de modèle animal qui récapitule de manière satisfaisante tous les aspects de la variole humaine. Le virus variolique peut être utile pour comprendre la physiologie et l'immunologie humaines parce qu'il a la capacité de submerger les défenses de son hôte d'une manière que peu de virus arrivent à égaler. Des recherches approfondies sont nécessaires pour mettre au point de meilleurs modèles animaux qui permettent de récapituler les aspects essentiels de la maladie humaine et pour comprendre les interactions virus-cellules dans les cellules cibles de l'homme se rapportant à la pathogenèse et à la réponse immunitaire.

De nouvelles études sur l'anatomopathologie de la variole humaine, par comparaison avec l'inoculation intraveineuse du virus de la variole et de l'orthopoxvirus simien chez le macaque cynomolgus, ont montré que le rôle des infections concomitantes, que les mécanismes de nécrose lymphoïde et d'hyperplasie lymphoïde et que l'anatomopathologie de l'appareil reproducteur, des poumons et du rein nécessitaient des études approfondies.

Même si la nécessité d'études parallèles avec l'orthopoxvirus simien est essentielle et si des progrès importants ont été réalisés avec les modèles de la variole, il reste beaucoup à faire. Les modèles doivent être optimisés en variant la souche virale, la dose et la voie d'exposition afin d'atteindre des objectifs précis. Des études doivent se poursuivre afin de déterminer les mécanismes de la nécrose lymphoïde, de l'hyperplasie et de l'apoptose, pour améliorer l'analyse des processus de coagulopathie/fibrinolyse et identifier des marqueurs biologiques pertinents pour une intervention clinique.

Le point sur le développement du ST-246[®]

Dennis E. Hruby

SIGA Technologies, Inc., États-Unis d'Amérique

On a besoin d'inhibiteurs efficaces pour les maladies à virus pox telles que la variole due au virus variolique, qui représente un agent potentiel de la guerre biologique. De la même façon, les infections zoonosiques émergentes dues au virus pox de la vache et à l'orthopoxvirus simien exigent la mise au point de ripostes efficaces.

Le ST-246[®] de SIGA, un antiviral contre la variole, répond à ce besoin jusqu'ici non satisfait et en est au dernier stade de mise au point et prêt à l'achat. Le ST-246[®] a montré qu'il était efficace dans tous les modèles de petits animaux et de primates non humains testés à ce jour.

Des essais de phase II ont été achevés de même que les études toxicologiques nécessaires dans le cadre de la NDA. SIGA est au cœur de la fabrication commerciale et de la préparation des études décisives d'innocuité et d'efficacité. L'actualisation 2010 de SIGA se concentrera sur l'achèvement des préparatifs nécessaires pour une fabrication à grande échelle, sur l'évolution vers une homologation réglementaire et sur les efforts en cours visant à satisfaire à l'« *Animal Rule* » à l'aide des modèles de primates non humains pour l'orthopoxvirus simien et le virus variolique.

État de développement du CMX001 contre le virus variolique et autres virus à ADN

Randall Lanier, Scott Foster, Bernhard Lampert, Tim Tippin, Lawrence C. Trost, Rose O'Mahony, Laurie Keilholz, Alice Robertson, Merrick Almond et George Painter

Chimerix Inc., Durham NC, États-Unis d'Amérique

Le CMX001 est un conjugué lipidique du cidofovir (CDV, Vistide®), un phosphonate nucléotidique acyclique. Le CMX001 et le CDV inhibent la réplication de l'ADN viral et sont actifs *in vitro* contre les 5 familles de virus à ADN double brin (bicaténaire) entraînant morbidité et mortalité chez l'homme, notamment les orthopoxvirus comme le virus variolique. Toutefois, l'utilité clinique du CDV est limitée par la nécessité de l'administrer en perfusion intraveineuse et du fait d'une incidence élevée de sa toxicité rénale aiguë.

Le CMX001 en est actuellement aux essais cliniques de phase II pour un usage prophylactique contre l'infection par le cytomégalovirus chez l'homme et au stade du développement dans le cadre de l'« *Animal Rule* » de la FDA pour le traitement de la variole. Il s'est avéré efficace pour réduire la morbidité et la mortalité chez les modèles animaux de la variole, même après le début des signes cliniques de la maladie, notamment des lésions. Le CMX001 présente un certain nombre d'avantages par rapport au CDV et à d'autres médicaments en cours de développement pour le traitement de la variole, notamment un large spectre d'inhibition des virus à ADN double brin provoquant des maladies chez l'homme, une importante barrière génétique à la résistance, une administration commode par voie orale sous forme de comprimé ou de liquide et, à ce jour, aucun signe de toxicité rénale.

L'absence de néphrotoxicité est appuyée par des données *in vitro* démontrant que le CMX001 ne constitue pas un substrat pour les transporteurs anioniques organiques de l'homme qui sécrètent activement le CDV dans les cellules rénales. Le profil de résistance du CMX001 et la possibilité de tester son innocuité et son efficacité chez des patients présentant des infections engageant le pronostic vital dues à des virus à ADN double brin qui partagent bon nombre de caractéristiques de base avec le virus variolique, constituent des avantages importants pour le développement de cet antiviral en vue d'une indication contre la variole.

État de développement clinique du vaccin IMVAMUNE[®], un vaccin antivariolique de troisième génération sans réplication

Lars Staal Wegner

Bavarian Nordic, Kvistgaard, Danemark

Actuellement développé en tant que seul vaccin antivariolique de troisième génération sans réplication, l'IMVAMUNE[®] (MVA-BN[®]) est un vaccin vivant hautement atténué préparé à partir d'une souche de virus de la vaccine qui ne se réplique pas dans les cellules humaines.

Plus de 3200 sujets ont été vaccinés au moyen de >5000 doses d'IMVAMUNE[®], notamment plus de 1000 sujets appartenant à des groupes à risque chez qui les vaccins antivarioliques conventionnels sont contre-indiqués, à savoir les patients infectés par le VIH ou présentant une dermatite atopique.

L'IMVAMUNE[®] s'est avéré sûr chez des sujets en bonne santé ainsi que dans des populations dont la fonction immunitaire est altérée. IMVAMUNE[®] induit une réponse immunitaire rapide et forte spécifique de la vaccine, comparable chez les sujets en bonne santé et chez les groupes à risque, et n'est pas inférieur aux vaccins traditionnels du type Dryvax. En outre, une ou deux vaccinations par l'INVAMUNE[®] induisent une immunité durable. Cela confirme le fait que ce vaccin est un candidat convenable à utiliser dans la population générale adulte, notamment chez les sujets chez qui les vaccins antivarioliques conventionnels sont contre-indiqués.

Le développement de l'INVAMUNE[®] est soutenu par les contrats du Gouvernement américain DMID N01-AI-30016, DMID N01-AI-40072, HHSO100200700034C et en mai 2010 les 2 premiers millions de doses (sur un total de 20 millions) ont été délivrées à l'US Strategic National Stockpile, dans le cadre de L'Emergency Use Authorization (EUA).

Le point sur l'utilisation du vaccin antivariolique LC16m8 au Japon

H. Yokote¹ et I. Kurane²

¹ L'Institut de Recherche chimio-séro-thérapeutique, Kumamoto, Japon

² Institut national des Maladies infectieuses, Toyama, Shinjuku-ku, Japon

Généralités

Avant les années 1970, les vaccins antivarioliques classiques étaient connus pour leur efficacité, mais ils provoquaient un certain nombre de manifestations indésirables. En 1972, le Ministère de la Santé et des Affaires sociales japonais a créé le Comité de Recherche sur les Vaccins antivarioliques afin de mener des recherches sur les manifestations indésirables liées à la vaccination antivariolique. Dans le cadre de ces recherches, plus de 10 000 enfants ont été vaccinés au moyen du LC16m8, qui entraînait des manifestations indésirables plus bénignes que celles précédemment observées avec les autres souches vaccinales usuelles. De ce fait, le LC16m8 a été homologué en 1975 au Japon.

À la lumière des préoccupations mondiales croissantes liées à un possible bioterrorisme au moyen du virus variolique, Kaketsuken a repris la fabrication du vaccin LC16m8 à la demande du Gouvernement japonais afin de constituer un stock national. En outre, une nouvelle structure de recherche, le Groupe de recherche sur les vaccins antivarioliques, constitué principalement par l'Institut national des Maladies infectieuses, Kaketsuken et l'Université de Keio, a été créée afin de mener des recherches fondamentales et des recherches cliniques sur le LC16m8.

Recherche clinique

Enfants

Neuf mille cinq cent trente-huit sujets ont été vaccinés au total par le LC16m8. Ils sont restés en observation et on a mesuré leur température quotidiennement pendant un mois après la vaccination. Les résultats sont les suivants :

- taux de « prise » (réaction cutanée importante) : 9075 sujets (95,2 %) ;
- fièvre : 663 (7,0 %), pustulose varioliforme aiguë : 1 (0,01 %) ;
- auto-inoculation : 9 (0,09 %) ;
- vésiculation satellite : 28 (0,29 %) ;
- exanthème postvaccinal : 8 (0,08 %) ;
- convulsions fébriles bénignes transitoires : 3 (0,03 %).

Adultes

Trois mille deux cent vingt et un adultes (dont 1529 « neufs » vis-à-vis du virus de la vaccine) appartenant aux forces japonaises d'autodéfense ont été vaccinés au total par le LC16m8. Les taux de « prise » du vaccin 10 à 14 jours après la vaccination étaient de 94,4 % pour les adultes « neufs » vis-à-vis du virus de la vaccine et de 86,6 % pour les autres. La séroconversion ou une réaction anamnétique efficace avec « prise » du vaccin au 30^e jour suivant la vaccination ont été observées chez 90,2 % des adultes « neufs » et chez 60,0 % des autres. Un cas de dermatite allergique et un autre d'érythème polymorphe ont été notés dans les réactions suspectes liées à la vaccination. Ces deux cas étaient bénins et les sujets se sont rapidement remis. Aucune manifestation indésirable n'a été observée.

Étude de pharmacovigilance

Une étude de pharmacovigilance a été effectuée au Japon chez 268 adultes en bonne santé (196 « neufs » et 71 déjà exposés). On a mesuré le titre d'anticorps neutralisants chez 100 sujets parmi les sujets « neufs » ou déjà exposés. Aucun rapport n'a fait état de manifestations indésirables graves ni de décès dus à la vaccination. On a observé des réactions indésirables chez 58 sujets, soit une fréquence de 21,6 % de réactions indésirables. Les principales réactions indésirables étaient les suivantes : adénopathie (19,4 %), érythème au point d'injection (5,2 %) et fièvre (1,5 %). Dans l'intervalle, on a évalué le taux de « prise » du vaccin chez les 268 sujets et il s'est avéré qu'il était de 94,4 %.

Utilisation chez les sujets immunodéprimés

Adultes

Deux sujets ont montré des signes de manifestations indésirables graves peut-être dues à la vaccination. Un jeune homme de 26 ans « neuf » vis-à-vis du virus de la vaccine a présenté un rash cutané au troisième jour suivant la vaccination ; ce dernier s'est propagé depuis les extrémités jusqu'au tronc. Le sujet a été hospitalisé au 20^e jour suivant la vaccination. On a diagnostiqué chez lui une dermatite allergique au moyen d'une biopsie cutanée. Un jeune homme de 29 ans également « neuf » a présenté un rash cutané au niveau du tronc au 10^e jour suivant la vaccination, et un diagnostic d'érythème polymorphe a été posé.

Sujets ayant des antécédents allergiques

On a observé un ganglion lymphatique enflé chez un sujet ayant des antécédents d'allergie aux pyrazolones, réaction qui a disparu au bout d'un mois. Aucune manifestation indésirable n'a été observée chez les sujets présentant un eczéma.

L'utilisation du virus variolique vivant à l'appui du développement de vaccins moins réactogènes : évaluation continue des vaccins de « troisième génération »

Inger Damon, Kevin Karem, Victoria Olson, Scott K. Smith, Zachary Braden, Christine Hughes, Whitney Davidson

Centre collaborateur OMS pour la variole et les autres orthopoxviroses, Atlanta, GA, Etats-Unis d'Amérique

Autres collaborateurs extérieurs :

R. Lindsey Baden, Harvard University,

Frances Newman, Sharon Frey, Robert Belshe, St. Louis University

Bernard Moss, LVD/NIAID/NIH

Financé par : DMID/NIAID/NIH

Importance pour la santé publique

Les vaccins antivarioliques, préparés à partir de souches de virus de la vaccine vivants se répliquant complètement, ont été la principale intervention de santé publique utilisée avec succès pour éradiquer la variole. Toutefois, une fréquence inacceptable de manifestations indésirables, engageant parfois le pronostic vital, a été observée. L'augmentation des affections immunosuppressives partout dans le monde fait qu'il est probable que si ces vaccins étaient l'unique intervention de santé publique appliquée aujourd'hui, ils auraient pour conséquence un nombre encore plus élevé de manifestations indésirables. C'est pourquoi on a besoin d'un nouveau vaccin antivariolique ayant moins d'effets secondaires – un vaccin sûr et efficace. En l'absence d'un modèle animal dans lequel on utiliserait du virus variolique, la seule démonstration directe de l'efficacité de la réponse immunitaire suscitée contre le virus variolique est l'épreuve de neutralisation par réduction des plages mesurant le pouvoir infectant *in vitro*. La véritable efficacité des vaccins moins réactogènes, également connus sous le nom de vaccins de « troisième génération », pour prévenir la variole n'est pas établie. Le rôle de la neutralisation du virus variolique comme marqueur de l'efficacité vaccinale est peut-être plus important pour l'évaluation de ces vaccins qui ne suscitent aucune « prise », mesure traditionnelle de l'efficacité d'un vaccin.

Méthodes

Tous les travaux faisant intervenir du virus variolique vivant sont menés avec le maximum de confinement dans le laboratoire de sécurité biologique de niveau 4, conformément au mandat du centre collaborateur OMS pour la variole et les autres orthopoxviroses des Centers for Disease Control and Prevention d'Atlanta, Etats-Unis d'Amérique. Ce laboratoire est soumis à des inspections de sécurité et de sûreté biologiques fréquentes par des équipes indépendantes des Etats-Unis d'Amérique et de l'OMS.

Résultats

Pour déterminer la concordance des épreuves de neutralisation, on a calculé les titres moyens géométriques pour les titres de neutralisation à 60 % et 90 % pour chacune des cibles de la neutralisation des orthopoxvirus utilisées par les deux centres (SLU [virus de la vaccine -Dryvax et MVA] et CDC [virus de la variole]). Bien qu'on n'ait noté aucune différence significative lorsqu'on a comparé les titres de neutralisation à 60 %, on a obtenu une comparaison plus fiable pour les titres

de neutralisation à 90 %. En ayant recours à des tests de t appariés, on a noté des différences statistiquement significatives entre les différentes cibles antigéniques. L'application des coefficients de corrélation de Spearman a révélé des corrélations faiblement positives pour chacune des comparaisons. Les préparations virales renfermaient des proportions comparables de génomes par unité formatrice de plaque, excluant la possibilité que des différences dans la qualité des préparations virales puissent expliquer les différences de résultats des épreuves de neutralisation.

Par ailleurs, on a observé une variabilité individuelle dans la cinétique générale de la réponse immunitaire antivariolique mesurée par la neutralisation du virus variolique appartenant à la souche Solaimen. La majorité des participants ont montré un renforcement des titres de neutralisation à 50 % entre la dose une et la dose deux de MVA. Bien qu'on ait observé une légère diminution de ces titres 6 mois après le recrutement dans l'essai, tous les sujets ayant subi une « inoculation d'épreuve » au moyen d'une vaccination standard par le Dryvax ont montré un renforcement amnestique des titres de neutralisation du virus variolique Solaimen à 50 % lorsque les sérums ont été évalués environ 30 jours plus tard. On a observé des taux comparables avec multiplication par quatre des titres d'anticorps pour les deux schémas de vaccination par le MVA. Lorsqu'on a évalué les données agrégées, on a observé des titres moyens géométriques de neutralisation à 50 % du virus variolique Solaimen en général équivalents deux semaines après l'un ou l'autre des schémas d'administration du MVA. La capacité de neutralisation a été renforcée un mois après « l'inoculation d'épreuve » par le Dryvax pour les deux schémas vaccinaux. Un an après la vaccination, si les titres moyens géométriques ont décliné, ceux des sujets renforcés par le Dryvax étaient supérieurs à des sujets qui ne l'avaient pas reçu, indépendamment du mode d'administration.

Discussion/orientations futures

Historiquement, on s'est servi de la « prise » du vaccin comme d'un indicateur de réussite de la vaccination/de protection conférée. Les nouveaux vaccins antivarioliques de « troisième génération » ne provoquent pas de réaction dermatologique visible. Le réexamen des données du DMID 02-017 laisse à penser que l'on observe des différences significatives dans les titres finaux lorsqu'on utilise différents virus comme substrats pour la neutralisation. Le fait d'utiliser le Dryvax (préparé à partir du virus de la vaccine) comme antigène pour la neutralisation entraîne une sous-estimation, tandis que le MVA (préparé aussi à partir du virus de la vaccine) utilisé comme antigène pour la neutralisation surestime le titre de neutralisation du virus variolique Solaimen. Ce qui est peut-être encore plus troublant, c'est l'absence apparente de linéarité entre les réponses des sujets. Ici, notre analyse, combinée aux données d'autres essais vaccinaux, pourrait aider à déterminer si les titres de neutralisation obtenus avec le virus de la vaccine comme cible peuvent être à rapprocher des titres d'anticorps neutralisant le virus de la variole. En outre, il est essentiel de comprendre la réponse immunitaire faisant suite au schéma vaccinal par le MVA pour identifier un indicateur de protection.

Baden et al. ont, sous réserve de confirmation, identifié une corrélation entre le titre de neutralisation le plus élevé après la deuxième dose de MVA et l'atténuation ultérieure de la « prise » du vaccin et de la durée de l'excrétion virale après « inoculation d'épreuve » par le Dryvax.⁵ Nous prévoyons d'évaluer si cette corrélation existe également avec les titres d'anticorps

⁵ Seaman MS et al. Effect of vaccination with modified vaccinia Ankara (ACAM3000) on subsequent challenge with Dryvax. *Journal of Infectious Diseases*, 2010, 201: 1353-1360.

neutralisant le virus variolique. Pour cela, nous avons besoin d'évaluer les sérums des participants restants puisque le nombre de participants dans les deux groupes déjà testés ne permet pas d'avoir une puissance statistique suffisante. Ces données nous serviront également à comparer la réponse immunitaire antivariolique après administration intradermique ou sous-cutanée. Les observations préliminaires laissent à penser que l'administration intradermique pourrait permettre d'économiser des doses de virus vaccin. De plus, ces données nous permettront de caractériser plus complètement la cinétique de la réponse antivariolique.

Stocks de vaccins antivarioliques de l'OMS : le point

Organisation mondiale de la Santé, secrétariat Variole

Résolutions de l'Assemblée mondiale de la Santé :

Dans son rapport final de 1979, la Commission mondiale de Certification de l'Eradication de la Variole évoquait la nécessité de conserver des stocks de réserve de vaccins et concluait qu'il serait prudent que l'OMS et les autorités nationales soient préparées à faire face à des situations imprévues. La Commission recommandait que l'OMS conserve suffisamment de vaccin antivariolique lyophilisé pour vacciner 200 millions de personnes, ainsi que des stocks d'aiguilles bifurquées. En 1986, la réserve mondiale a été progressivement réduite.

En 2004, le Comité ad hoc sur les Orthopoxviroses a recommandé que :

- l'OMS crée, contrôle et entretienne un stock stratégique de vaccins antivarioliques à Genève. Ce stock stratégique ne sera disponible qu'en cas d'urgence. Le volume du stock de Genève doit être d'au moins 5 millions de doses ;
- un stock de vaccin antivariolique doit être constitué grâce aux engagements de dons pris par les Etats Membres. La taille de ce stock doit être au moins équivalente à la quantité de vaccin qui était disponible pour l'OMS à la fin du programme d'éradication (200 millions de doses).

En 2005, l'Assemblée mondiale de la Santé a pris note des recommandations de 2004 du Comité ad hoc sur les Orthopoxviroses et les a approuvées.

Stock de vaccin

L'OMS a constitué un stock stratégique de vaccins antivarioliques de 30,5 millions de doses, conservé en Suisse. Quatre-vingt-dix-huit pour cent (30 millions de doses) de ce stock stratégique sont constitués d'un vaccin de seconde génération. Les 2 % restants (530 000 doses provenant d'Allemagne, de Belgique, de Fédération de Russie, d'Iran (République islamique) et des Pays-Bas) sont constitués d'un vaccin de première génération.

En outre, par le biais d'un mécanisme virtuel de constitution de stock, quatre Etats Membres ont promis à l'OMS 27 millions de doses supplémentaires en cas de besoin : l'Allemagne, les Etats-Unis d'Amérique, la France et la Nouvelle-Zélande. L'OMS a convenu de modes opératoires normalisés avec ces quatre Etats Membres.

Au 1^{er} juillet 2010, l'OMS a constitué des stocks représentant au total 57,5 millions de doses (stock stratégique + engagements), ce qui est suffisant pour faire face à un certain nombre de scénarios. Cependant, les vaccins de troisième génération sont actuellement près d'obtenir leur homologation et l'OMS espère qu'une fois qu'ils seront disponibles, les Etats Membres faciliteront leur incorporation dans le stock.

Numérisation des archives du Programme d'éradication de la variole : résultats, perspectives et stratégie

Marie Villemain Partow

Organisation mondiale de la Santé

Généralités

Le projet de numérisation des archives du Programme d'éradication de la variole a débuté en juin 2009. À ce jour, les résultats ont été très positifs et offrent de nombreuses possibilités pour l'avenir.

Archives du Programme d'éradication de la variole

Fonds physique :

| | |
|----------------------------|---|
| Conservation : | Archives, Siège de l'OMS |
| Taille : | 122 mètres linéaires, 600 boîtes d'archives, 2000 fichiers |
| Période couverte : | 1948-1987, principalement 1965-1980 |
| Instruments de recherche : | Archives du Programme d'éradication de la variole : guide et inventaire, Vol. I et II, 1982 et 1988 |

Fonds numérisé :

| | |
|----------------|--|
| Numérisation : | Couleur, 1/1, 300 dpi, OCR |
| Format : | TIFF et PDF/A |
| Taille : | 10 To |
| Stockage : | Disques SATA2 sur MD3000i, copies de sécurité sur bandes magnétiques LTO3 (EMC NetWorker) |

La description et les fichiers PDF/A destinés à la consultation sont intégrés dans le serveur ERMS Livelink Entreprise

Phases du projet

| | |
|-------------------------------------|-------------------------------|
| Analyse des besoins | Mai-septembre 2009 |
| Numérisation | Septembre 2009-août 2010 |
| Intégration dans la base de données | 5 mois |
| Étude de faisabilité | Août 2009 |
| Prototype | 1 mois (janvier-février 2010) |
| Règles de catalogage | 4 mois (mars-juin 2010) |
| Saisie des métadonnées | 4 mois (juillet-octobre 2010) |

Les résultats

Le principal problème posé par ce projet a été le volume de papier et de données électroniques en jeu. L'équipe a bénéficié de la compétence de spécialistes aussi bien au sein de l'OMS qu'à l'extérieur. Cela a été le premier projet de numérisation à grande échelle entrepris par le Service des archives de l'OMS. On a donc prêté attention aux besoins à plus long terme en vue d'une planification future, de façon à conserver et à réutiliser les connaissances et l'expérience engrangées pour de futurs projets de numérisation. Ce projet a démontré l'importance d'une bonne planification et d'une analyse détaillée des besoins, ainsi que le rôle essentiel des partenariats avec des experts

extérieurs, tels que les scientifiques des unités techniques, et avec ceux des technologies de l'information.

L'objectif principal était :

- la conservation des fichiers papier ;
- l'intégration des archives scannées dans une base de données spécialisée équipée d'un moteur de recherche puissant.

Ces deux objectifs ont été atteints.

La stratégie

Suite à l'achèvement de la phase d'intégration et de conservation, l'objectif suivant est maintenant de mettre à la disposition du grand public les fichiers numérisés. Les membres du personnel de l'OMS pourront avoir accès à ces fichiers via un site SharePoint spécialisé au début 2011. Tous les fichiers figurant dans les archives variole ont été numérisés en format PDF, avec une entrée unique dans une base de données spécialisée. De ce fait, n'importe quel fichier peut être retrouvé sur demande pour des chercheurs extérieurs ou appartenant à l'OMS. L'objectif visé est que toutes ces données puissent être en définitive disponibles dans le monde entier via une interface Web spécialisée.

Annexe 2. Ordre du jour de la réunion

Douzième réunion du Comité consultatif OMS de Recherche sur le Virus variolique, 17 et 18 novembre 2010 Salle A, OMS, Genève, Suisse

Ordre du jour

17 novembre 2010

| | |
|-----------------|---|
| 9 h 00-9 h 15 | Ouverture – Sous-Directeur général pour la Sécurité sanitaire et l’environnement Élection du président et du rapporteur |
| 9 h 15-9 h 25 | Rapport du Secrétariat – Secrétariat de l’OMS |
| 9 h 25-9 h 35 | Le point sur les propositions de recherche soumises à l’OMS et approuvées par le Sous-Comité scientifique – R. Drillien |
| 9 h 35-9 h 50 | Le point sur les clones de virus variolique détenus au NICD, Afrique du Sud – B. Swanepoel |
| 9 h 50-10 h 00 | Résumé du processus d’examen 2011 – Secrétariat de l’OMS Présentation des 6 chapitres de l’« Analyse scientifique de la recherche sur le virus variolique, 1999-2010 » (début) 10 min + 5 min de discussion pour chacun |
| 10 h 00-10 h 15 | Vaccins antivarioliques – Antonio Alcamí et Bernard Moss |
| 10 h 15-10 h 30 | Épreuves diagnostiques de laboratoire – Inger Damon, Hermann Meyer et Sergei Shchelkunov |
| 10 h 30-10 h 45 | Génomique de la variole – Grant McFadden, David Evans, Sergei Shchelkunov et Inger Damon |

10 h 45-11 h 00

Pause-café

Présentation des 6 chapitres de l’« **Analyse scientifique de la recherche sur le virus variolique, 1999-2010** » (suite)

11 h 00-11 h 15

La situation des conservatoires des centres collaborateurs OMS – Evgeny Stavskiy, Christine Hughes, Inger K. Damon

11 h 15-11 h 30

Modèles animaux et pathogénèse – Peter B. Jahrling

11 h 30-11 h 45

Développement d’antiviraux pour le traitement de la variole – John W. Huggins et Nina Tikunova

11 h 45-12 h 15

Discussions des 6 comptes rendus d’examen du Comité consultatif de Recherche sur le Virus variolique

12 h 15-13 h 15

Déjeuner

13 h 30-14 h 00

Présentation du rapport du « **Groupe consultatif d’experts indépendants chargé d’examiner le programme de recherche sur la variole** » – Tania Sorrell et Rakesh Aggarwal

14 h 00-14 h 30

Discussions sur le rapport du Groupe consultatif d’experts indépendants chargé d’examiner le programme de recherche sur la variole

14 h 30-15 h 00

Résumé des discussions – R. Drillien/G. L. Smith

15 h 00-15 h 30

Pause-café

| | |
|------------------------|---|
| 15 h 30-16 h 00 | Le Sous-groupe réseau des laboratoires de diagnostic de la variole – J.-C. Piffaretti |
| 16 h 00-16 h 15 | L'utilisation du virus variolique vivant pour entretenir et régénérer les matériels non infectieux tirés du virus variolique et destinés au développement d'épreuves diagnostiques – K. Karem et V. Olson |
| 16 h 15-16 h 30 | Rapport 2010 sur la collection de virus varioliques du conservatoire du centre collaborateur OMS VECTOR, Fédération de Russie – S. Shchelkunov |
| 16 h 30-16 h 45 | Discussion |
| 16 h 45-17 h 00 | L'utilisation du virus variolique vivant pour évaluer les antiviraux contre la variole – V. Olson |
| 17 h 00-17 h 15 | Modèles animaux et pathogenèse : position de la santé publique – P. Jahrling |
| 17 h 15-17 h 30 | Le point sur le développement du ST-246 – D. Hruby |
| 17 h 30-17 h 45 | État de développement du CMX001 contre la variole et autres virus à ADN double brin – Randall Lanier |
| 17 h 45-18 h 00 | État de développement clinique du vaccin antivariolique de troisième génération ne se répliquant pas : IMVAMUNE® – Lars Staahl Wegner |
| 18 h 00-18 h 15 | Le point sur l'utilisation du vaccin antivariolique LC16m8 – H. Yokote et I. Kurane |
| 18 h 15-18 h 30 | L'utilisation du virus variolique vivant à l'appui du développement de vaccins moins réactogènes : évaluation continue des vaccins de « troisième génération » – I. Damon |

18 h 30-19 h 30

Réception

FIN DE LA PREMIÈRE JOURNÉE

**Douzième réunion du Comité consultatif OMS de Recherche sur le Virus variolique,
17 et 18 novembre 2010
Salle A, OMS, Genève, Suisse**

18 novembre 2010

| | |
|-----------------|---|
| 9 h 00-9 h 15 | Le point sur les stocks de vaccin antivariolique de l'OMS – Secrétariat de l'OMS |
| 9 h 15-9 h 45 | Numérisation des archives du Programme d'éradication de la variole : résultats, perspectives et stratégie – M. Villemin Partow |
| 9 h 45-10 h 15 | Discussion générale et préparation d'un projet de rapport de la réunion |
| 10 h 15-10 h 45 | Pause-café |
| 10 h 45-11 h 15 | Discussion générale et préparation d'un projet de rapport de la réunion (suite) |
| 11 h 15-12 h 00 | Discussion sur le futur du Comité consultatif de la Recherche sur le Virus variolique |
| 12 h 00-13 h 30 | Déjeuner |
| 13 h 30-15 h 00 | Discussion générale et préparation d'un projet de rapport de la réunion (suite) |
| 15 h 00-15 h 30 | Pause-café |
| 15 h 30-16 h 30 | Discussion finale et finalisation du projet de rapport de la réunion |

**CLOTURE DE LA REUNION DU COMITE CONSULTATIF
DE LA RECHERCHE SUR LE VIRUS VARIOLIQUE**

Annexe 3. Liste des participants

**Douzième réunion du Comité consultatif OMS de la Recherche sur le Virus variolique,
17 et 18 novembre 2010
Salle A, Siège de l'OMS, Genève**

LISTE DES PARTICIPANTS

CONSEILLERS TEMPORAIRES

MEMBRES DU COMITE CONSULTATIF

Dr Isao Arita, Chairman Agency for Cooperation in International Health, 4-11 – 1 Higashi-Machi, Kumamoto City, JAPON

Dr Robert Drillien, Directeur de recherche à l'INSERM, Institut de Génétique et de Biologie moléculaire et cellulaire, Illkirch cedex, FRANCE

Professeur Mariano Esteban, Director, Departamento de Biología celular y molecular, Centro Nacional de Biotecnología (CSIC), Madrid, ESPAGNE

Dr David Evans,* Professor and Chair, Medical Microbiology and Immunology, University of Alberta, Alberta, CANADA

Dr Ali Shan Khan, Deputy Director, National Center for Zoonotic, Centers for Disease Control and Prevention Vector-Borne and Enteric Disease, Atlanta, GA, ÉTATS-UNIS D'AMÉRIQUE

Professeur J. Michael Lane, MD MPH, Professor, Emeritus of Preventive Medicine, Emory University, School of Medicine, Atlanta, GA, ÉTATS-UNIS D'AMÉRIQUE

Dr Willem Luytjes,* Head of the Vaccine Research Department, RSV Vaccine Project Manager, Influenza Research Manager, Netherlands Vaccine Institute (NVI), Unit R&D, Vaccine Research AL Bilthoven, PAYS-BAS

Dr Akhilesh Mishra, Director, National Institute of Virology, Pune, INDE

Dr Jean-Vivien Mombouli,* Directeur, Département de la Recherche et de la Production, Brazzaville, CONGO

Professeur Peter M. Ndumbe,* Microbiologist, Centre for the Study and Control of Communicable Diseases (CSCCD), Faculty of Medicine and Biomedical, Sciences, University of Yaoundé, Yaoundé, CAMEROUN

Dr Andreas Nitsche, Highly Pathogenic Viruses, Centre for Biological Safety, Robert Koch-Institute, Berlin, ALLEMAGNE

Dr Gerald W. Parker, Principal Deputy Assistant Secretary, Office of the Assistant Secretary for Preparedness and Response, Department of Health and Human Services, Washington, DC, ÉTATS-UNIS D'AMÉRIQUE

Professeur Pilaipan Puthavathana, Department of Microbiology, Faculty of Medicine Siriraj Hospital, Mahidol University, Bangkok, THAÏLANDE

Dr Tony Robinson, Consultant Virologist, CSIRO Sustainable Ecosystems, Michelago NSW, AUSTRALIE

Dr Li Ruan, Chairman & Professor of Department of the Biotechnology Center for Viral Disease Emergency, c/o Ministry of Health Beijing, Xunawu Qu, Beijing, CHINE

Professeur Geoffrey L. Smith, Department of Virology, Faculty of Medicine, Imperial College London, St Mary's Campus, Norfolk Place, London, ROYAUME-UNI

Dr Evgeny Stavskiy,* Deputy Director General for Scientific Research, Federal State Research Institution, State Research Center of Virology and Biotechnology VECTOR, Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Well-being, Koltsovo, Novosibirsk Region, FÉDÉRATION DE RUSSIE

Professeur Robert Swanepoel, Head of the Special Pathogens Unit, National Institute for Virology, Johannesburg, AFRIQUE DU SUD

Professeur Muyembe Tamfum, Directeur, Institut national de Recherche biomédicale (INRB), Kinshasa, REPUBLIQUE DEMOCRATIQUE DU CONGO

Dr Prasert Thongcharoen,* Division of Virology, Department of Microbiology, Faculty of Medicine Siriraj Hospital, Mahidol University, Bangkok, THAÏLANDE

Dr Oyewale Tomori, Regional Virologist, Redeemer's University, Ikeja, Lagos State, NIGÉRIA

Dr Henda Triki, Chief, Laboratory of Clinical Virology, Institut Pasteur de Tunis, Tunis, TUNISIE

Dr Kummuan Ungshusak,* Director, Bureau of Epidemiology, Ministry of Public Health, Nonthaburi, THAÏLANDE

CONSEILLERS DU COMITE

Professeur Rakesh Aggarwal, Department of Gastroenterology, Sanjay Gandhi Postgraduate Institute of Medical Sciences, Lucknow, INDE

Dr Xu Aiqiang,* Shandong Center for Disease Prevention, Shandong, CHINE

Dr Antonio Alcami, Research Professor, Centro de Biotecnología Molecular Severo Ochoa (CSIC-UAM), Campus de Cantoblanco, Madrid, ESPAGNE

Dr Kalyan Banerjee, Vice President, Maharashtra Association for the Cultivation of Science Pune, INDE

Dr Zhenqiang Bi, Director, Shandong Center for Disease Control and Prevention, Jinan, Shandong, CHINE

Dr Peter D. E. Biggins, Head of International Research, DERA-CBD, CBY Systems, Porton Down, Salisbury Wilshire SP, ROYAUME-UNI

Dr Luciana L. Borio, Smallpox Vaccines and Therapeutics, Division of CBRN Countermeasures, Department of Health and Humans Services (HHS), Silver Spring, MD, ÉTATS-UNIS D'AMÉRIQUE

Dr Jacob Thorup Cohn, Vice President, Governmental Affairs Bavarian Nordic A/S, Kvistagard, DANEMARK

Dr Clarissa Damaso, Head, Virus Laboratory Biophysics Institute, Federal University of Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, BRÉSIL

Dr Inger K. Damon, Chief, Poxvirus Section and Rabies Branch, DVRD/NCZUED/CCID Centers for Disease Control and Prevention (CDC) Atlanta, ÉTATS-UNIS D'AMÉRIQUE

Dr Falk Ehmann, Scientific Administrator, Unit for Pr-Authorisations Evaluation of Medicines for Human Use, European Medicines Agency (EMA), London, ROYAUME-UNI

Dr Olivier Engler, Spiez Laboratory, Groupement de l'armement, Spiez, SUISSE

Professeur Daniel Garin, Head of Virology Laboratory, CRSSA Emile Parde, Grenoble, FRANCE

Dr Dennis E. Hruby, Chief Scientific Officer, SIGA Technologies Inc., Corvallis OR, ETATS-UNIS D'AMERIQUE

Professeur Zhihong Hu,* Wuhan Institute of Virology, Chinese Academy of Sciences, Wuchang, Wuhan Hubei, CHINE

Dr John Huggins, Chief, Department of Viral Therapeutics, Virology Division, US Army Medical Research Institute of Infectious Diseases (USAMRIID), Fort Detrick, MD, ÉTATS-UNIS D'AMÉRIQUE

Dr Peter Jahrling, Director, National Integrated Research Faculty, Bethesda, MD, ÉTATS-UNIS D'AMÉRIQUE

Dr Jørgen de Jonge, Senior Scientist Vaccine Research, Netherlands Vaccine Institute (NVI), Bilthoven, PAYS-BAS

Dr Kevin Karem, Acting Team leader of the Poxvirus Team, Centers for Disease Control and Prevention (CDC), Atlanta, GA, ÉTATS-UNIS D'AMÉRIQUE

Dr Randall Lanier, Senior Director of Virology, Office Manager/Executive Assistant, Chimerix Inc., Durham NC, ÉTATS-UNIS D'AMÉRIQUE

Dr James LeDuc, Professor, Microbiology and Immunology, University of Texas Medical Branch Galveston National Lab, Galveston, TX, ÉTATS-UNIS D'AMÉRIQUE

Dr Boris D. Lushniak,* Assistant Commissioner for Counterterrorism Policy, Food and Drug Administration (FDA), Rockville MD, ÉTATS-UNIS D'AMÉRIQUE

Dr Jean-Claude Manuguerra, Head, Laboratory for Urgent Response to Biological Threats, Institut Pasteur, Génétique moléculaire des virus respiratoires, Paris, FRANCE

Dr Grant McFadden, Department of Molecular Genetics & Microbiology, College of Medicine, University of Florida, Gainesville FL, ÉTATS-UNIS D'AMÉRIQUE

Dr Michael Merchlinsky,* Division of CBRN Countermeasure Biomedical Advanced Research and Development Authority (BARDA), Office of Assistant Secretary of Preparedness and Response (ASPR), U. S. Department of Health & Human Services (HHS), Washington, DC, ÉTATS-UNIS D'AMÉRIQUE

Dr Hermann Meyer, Head of BSL-3 Laboratory, Bundeswehr Institute of Microbiology, Lohhof, ALLEMAGNE

Dr Aubrey K. Miller,* Chief Medical Officer, FDA Office of Counterterrorism and Emerging Threats, Rockville, MD, ÉTATS-UNIS D'AMÉRIQUE

Dr Shigeru Morikawa, Chief, Laboratory of Special Pathogens, Department of Virology 1, National Institute of Infectious Diseases, Tokyo, JAPON

Dr Darcey Moore,* Office Manager/Executive Assistant, Chimerix, Inc., Durham, NC, ÉTATS-UNIS D'AMÉRIQUE

Dr Bernard Moss, Investigator, National Institute of Allergy and Infectious Diseases, National Institutes of Health, Bethesda, MD, ÉTATS-UNIS D'AMÉRIQUE

Dr Dawn Myscofski,* Chief, Smallpox Vaccines and Therapeutics Division of CBRN Countermeasures, Department of Health and Human Services (HHS), Washington, DC, ÉTATS-UNIS D'AMÉRIQUE

Dr Victoria Olson, Research Microbiologist, Poxvirus Program, Division of Viral and Rickettsia Diseases National, Center for Infectious Diseases, Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, GA, ÉTATS-UNIS D'AMÉRIQUE

Dr Jean-Claude Piffaretti, Interlifescience, Massagono, SUISSE

M. Vladimir Ryabenko,* Chief Officer, Department of R&D Coordination and Planning, FSRI State Research Centre of Virology and Biotechnology VECTOR, Koltsovo, Novosibirsk Region, FEDERATION DE RUSSIE

Professeur Sergei Shchelkunov, Head, Dept of Molecular Biology of Genomes, State Research Center of Virology and Biotechnology VECTOR, Koltsovo, Novosibirsk Region, FEDERATION DE RUSSIE

Professeur Tania C. Sorrell, Director Centre for Infectious Diseases and Microbiology, University of Sydney, Sydney, AUSTRALIE

Dr David Ulaeto, Scientific Leader Biomedical Sciences DERA-CBD, Salisbury, Wiltshire, ROYAUME-UNI

Dr Hiroyuki Yokote, Regulatory Affairs, The Chemo-Sero-Therapeutic Research Institute, Kumamoto, JAPON

OBSERVATEURS

Dr Ichiro Kurane, Deputy Director General, National Institute of Infectious Diseases (NIID), Tokyo, JAPON

Dr Lars S. Wegner, Director, Medical Marketing, Bavarian Nordic, Solford Stand, DANEMARK

ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTE

BUREAUX REGIONAUX

Dr Francis Kasolo, Administrateur de programme, Programme de surveillance intégrée des maladies, représentant d'AFRO

Représentant d'AMRO*

Dr Hassan El Bushra, représentant d'EMRO

Dr Eugene Gavrilin, Coordonnateur Labnet CDS, représentant d'EURO*

Dr Kasai Takeshi, représentant de SEARO*

Représentant de WPRO*

SIEGE

Dr Keiji Fukuda, ADG/HSE

Dr Mike Ryan, Directeur, HSE/GAR

Dr Jean-Marie Okwo-Bele, Directeur, FCH/IVB*

Dr Joachim M. Hombach, Directeur, FCH/GAR/IVR*

Dr David Wood, Coordonnateur, FCH/IVB/QSS*

Dr Pierre Formenty, Coordonnateur, HSE/GAR/BDP

M. Jean-Christophe Azé, Chef d'équipe, HSE/GAR/ARO/LOG*

Mme Marie Sarah Villemin Partow, Chargée d'information, ISS/RAS

Dr Faith McLellan, HSE/IHR (Rapporteur)

* N'a pu assister à la réunion.