



Eradication de la variole : destruction des stocks de virus variolique

Rapport du Secrétariat

1. Le Comité consultatif OMS de la Recherche sur le Virus variolique a été créé en application de la résolution WHA52.10 qui a autorisé le maintien temporaire, jusqu'en 2002 au plus tard, des stocks existants de virus variolique dans les deux sites actuels¹ sous réserve d'un examen annuel par l'Assemblée de la Santé. La résolution a également prié le Directeur général de nommer un groupe d'experts chargés de déterminer si des recherches doivent être effectuées le cas échéant pour arriver à un consensus sur la date de destruction des stocks de virus.

2. Par sa résolution WHA55.15, l'Assemblée de la Santé a autorisé à nouveau le maintien temporaire des stocks existants de virus variolique vivant, étant entendu que toutes les recherches approuvées resteraient axées sur les résultats et limitées dans le temps, et que les réalisations et les résultats seraient examinés périodiquement. Par la même résolution, l'Assemblée de la Santé a également prié le Directeur général de veiller à la poursuite des travaux du Comité consultatif et de faire rapport chaque année à l'Assemblée de la Santé, par l'intermédiaire du Conseil exécutif, sur les progrès accomplis par le programme de recherche et les questions pertinentes.

3. Le présent document contient le rapport de la cinquième réunion du Comité (qui s'est tenue à Genève les 4 et 5 novembre 2003), au cours de laquelle il a examiné les progrès des travaux de recherche effectués depuis sa dernière réunion sur le virus variolique vivant.²

CINQUIEME REUNION DU COMITE CONSULTATIF OMS DE LA RECHERCHE SUR LE VIRUS VARIOLIQUE

4. Le Comité a estimé que, dans l'ensemble, des progrès importants avaient été accomplis au cours de l'année écoulée, en particulier dans la caractérisation des isolements détenus dans les deux collections, la mise au point de tests de diagnostic de la variole et l'étude de la diversité du génome du

¹ Centers for Disease Control and Prevention (CDC), Atlanta, Géorgie (Etats-Unis d'Amérique) et Centre de Recherche de l'Etat sur la Virologie et la Biotechnologie (VECTOR), Koltsovo, région de Novossibirsk (Fédération de Russie).

² Les rapports des réunions du Comité et des résumés faisant la synthèse des récents travaux de recherche peuvent être consultés sur le site : <http://www.who.int/csr/disease/smallpox/research/en/>.

virus variolique. Le modèle primate de la variole humaine a été affiné, mais doit être encore perfectionné avant qu'on puisse l'utiliser pour évaluer l'efficacité de nouveaux médicaments antiviraux et de vaccins plus sûrs. Le Comité a noté que plusieurs lacunes des connaissances avaient été comblées, mais a estimé qu'il fallait encore poursuivre les travaux pour parvenir à un consensus sur la date de destruction des stocks de virus restants.

5. Le Comité a formulé les **recommandations** suivantes :

- a) Les inventaires des matériels viraux détenus dans les deux conservatoires devraient être mis à jour selon le format normalisé établi en collaboration avec l'OMS ; le Comité devrait faire le point sur la mise en oeuvre de cette recommandation à sa prochaine réunion.
- b) Les isollements de virus dont la détention ne se justifie pas scientifiquement (en particulier les virus chimères de la collection des CDC aux Etats-Unis d'Amérique et les isollements dont il a été établi qu'ils ne sont pas viables) devraient être détruits et leur destruction devrait être consignée dans l'inventaire ; cette recommandation n'interdit pas de préparer des échantillons d'ADN qui seront ensuite archivés si l'on estime que le matériel biologique peut servir à des études ultérieures. L'OMS devrait être chargée d'appliquer cette recommandation en collaboration avec les autorités des deux conservatoires.
- c) Les orthopoxvirus non varioliques détenus par les CDC ne devraient pas figurer dans l'inventaire et devraient être conservés séparément, dans l'unité de sécurité biologique niveau 4, ou détruits.
- d) Tous les Etats Membres devraient pouvoir obtenir sur demande des renseignements précis sur les méthodes utilisées pour les tests de diagnostic de la variole mis au point dans le cadre de programmes de recherche agréés.
- e) Pour valider les tests diagnostiques, il faut poursuivre les recherches sur les méthodes d'extraction de l'ADN du virus variolique dans des échantillons cliniques authentiques ; on utilisera à cette fin des matériels provenant de primates non humains infectés ou d'échantillons d'archives.
- f) Le modèle primate de la variole humaine doit être encore amélioré afin de faciliter la mise au point d'antiviraux et de vaccins.
- g) La recherche conduisant à la mise au point de nouveaux antiviraux et de vaccins plus sûrs devrait figurer au nombre des priorités.
- h) L'OMS devrait rédiger et diffuser largement des lignes directrices pour l'évaluation de la qualité, de l'innocuité et de l'efficacité des vaccins antivarioliques de nouvelle génération.
- i) Plusieurs questions de sécurité concernant les recherches qu'il est proposé de faire au moyen du virus variolique vivant ou de gènes du virus variolique ne sont pas encore résolues et doivent être examinées plus à fond par des experts dans le cadre du groupe consultatif de l'OMS sur la sécurité biologique et du Comité ad hoc sur les Orthopoxviroses, avant de pouvoir recommander de tels travaux.

6. **Souches virales détenues dans les deux conservatoires.** Sur les 120 souches de virus variolique qui figurent dans la collection du VECTOR, dans la Fédération de Russie, 55 isollements

ont été soumis à des tests de viabilité et 32 d'entre eux ont pu être cultivés. L'analyse de l'ADN de 22 isollements a révélé qu'ils se répartissaient en trois grands groupes (souches africaine, asiatique et alastrim). Sur les 451 isollements de la collection des CDC, 49 ont fait l'objet d'un test de viabilité et 45 d'entre eux ont pu être cultivés. L'analyse de l'ADN des 45 isollements a montré là aussi qu'ils se répartissaient en grands groupes.

7. Le Comité a réitéré la recommandation qu'il avait faite à sa quatrième réunion¹ selon laquelle les virus chimères (obtenus par recombinaison des virus varioliques avec d'autres orthopoxvirus) détenus par les CDC devraient être détruits, et leur destruction consignée dans l'inventaire. Cette recommandation n'interdit pas la préparation d'échantillons d'ADN destinés à être archivés. Le Comité a également recommandé de détruire les isollements qui se sont révélés non viables et de l'indiquer dans les inventaires. Cette recommandation n'interdit pas d'isoler l'ADN si cela peut servir à des études ultérieures.

8. L'OMS a conçu un format électronique standard pour la tenue des inventaires qui sera disponible sous peu où figurent des renseignements sur l'origine, les propriétés biologiques, les passages antérieurs et autres caractéristiques des isollements et où est enregistré le matériel biologique utilisé pour les travaux en cours. Des inventaires standardisés faciliteront l'inspection et le contrôle des conservatoires auxquels l'OMS procède régulièrement.

9. **Tests diagnostiques et méthodes de détection.** Les scientifiques des CDC ont mis au point et comparé deux méthodes d'amplification génique en temps réel pour la détection de l'ADN des orthopoxvirus en général et du virus variolique en particulier. Ces méthodes ont été employées avec succès lors d'une récente flambée d'orthopoxvirose simienne aux Etats-Unis d'Amérique. Le personnel des CDC a également constitué des séries d'ADN codé, y compris de l'ADN du virus variolique et d'autres orthopoxvirus, afin d'évaluer les tests diagnostiques qui reposent sur l'identification de l'ADN viral.

10. Les travaux menés par des scientifiques du Royaume-Uni de Grande-Bretagne et d'Irlande du Nord sur la détection du virus variolique ont également débouché sur une technique qui permet de distinguer l'ADN du virus variolique de celui d'autres orthopoxvirus.

11. Les travaux sur les anticorps monoclonaux spécifiques du virus variolique n'ont pas encore abouti à des tests utiles ; de nouvelles stratégies, y compris l'association de plusieurs anticorps monoclonaux, sont à l'étude.

12. Le Comité a estimé que, d'une manière générale, la mise au point de tests diagnostiques et de méthodes de détection du virus variolique avait progressé. D'autres travaux s'imposent toutefois pour évaluer les tests diagnostiques réalisés au moyen de matériels biologiques provenant de lésions varioliques authentiques chez des primates non humains infectés ou provenant d'échantillons archivés. L'efficacité des méthodes d'extraction de l'ADN dans ces matériels biologiques doit aussi être confirmée. Les scientifiques qui travaillent sur les tests de diagnostic de la variole devraient avoir accès au matériel viral non infectieux pour les tests de validation.

13. **Analyse des séquences d'ADN.** Des travaux d'analyse des séquences de l'ADN de différentes souches de virus variolique avancent. Les chercheurs russes ont séquencé 5 gènes d'un vaste ensemble d'orthopoxvirus, dont le virus variolique. Les dendrogrammes établis sur la base des résultats mettent

¹ Voir le document EB111/5.

en évidence une relation étroite entre les différents isollements de la même espèce d'orthopoxvirus, à l'exception des isollements d'orthopoxvirus bovin, qui semblent plus hétérogènes comparés les uns aux autres. Le Comité a noté cependant qu'il pouvait s'avérer difficile d'établir des relations phylogénétiques en se basant sur quelques gènes seulement. Les chercheurs américains ont séquencé 26 génomes de virus variolique. Une méthode rapide de séquençage destinée à faciliter la confirmation de génomes déjà connus est en cours d'élaboration. Ces travaux ont en outre mis en lumière les caractéristiques uniques des génomes de virus variolique. Un nouveau logiciel informatique est en train d'être mis au point pour l'analyse et la visualisation des séquences d'ADN conservées et variables du virus variolique.

14. **Modèles animaux.** Les travaux sur un modèle primate de la variole humaine se poursuivent. Les expériences faites sur des macaques infectés montrent qu'ils développent invariablement une maladie hémorragique mortelle semblable à la variole hémorragique, et de récents travaux ont permis d'en apprendre davantage sur l'évolution de l'infection. Le Comité a estimé qu'il fallait faire d'autres recherches sur les modes d'infection et sur le moyen d'accroître la virulence du virus variolique chez les singes par passage en série. Un modèle animal fiable de la variole humaine sera nécessaire pour remplir les conditions d'homologation de nouveaux antiviraux et de nouveaux vaccins.

15. **Mise au point d'antiviraux.** Le traitement antiviral par le cidofovir empêche la mort chez le singe lorsqu'il est administré 24 heures avant l'infection. Lorsqu'on inocule au singe des doses plus faibles de virus variolique, qui se rapprochent le plus de la pathogenèse de la variole authentique, le cidofovir confère une protection lorsqu'il est administré deux jours après l'inoculation dans des conditions expérimentales, tandis que les animaux témoins présentent d'importantes lésions et que quelques-uns meurent. Ces résultats ont également été validés à l'aide du modèle d'épreuve de l'orthopoxvirus simien. Les essais du cidofovir conjugué à des lipides en formulation pour voie orale montrent une plus grande activité *in vitro* et chez la souris après inoculation de doses normalement mortelles de l'orthopoxvirus bovin.

16. On continue de déployer des efforts très importants pour découvrir de nouveaux composés. Les programmes de découverte de médicaments dans la Fédération de Russie et aux Etats-Unis d'Amérique criblent un grand nombre de composés par des méthodes *in vitro* ou assistées par ordinateur, et ont identifié plusieurs nouvelles molécules chefs de file à expérimenter sur des modèles animaux.

17. **Mise au point de vaccins.** Les travaux entrepris aux Etats-Unis d'Amérique pour évaluer le virus Ankara, qui est un virus de la vaccine modifié, comme vaccin vivant atténué se poursuivent. Les chercheurs ont obtenu des résultats prometteurs en utilisant le modèle d'épreuve de l'orthopoxvirus simien pour déterminer le pouvoir protecteur d'un virus modifié et atténué de la souche Ankara chez le singe comparé à celui d'un vaccin antivariolique classique. D'autres travaux sont en cours dans un certain nombre de pays sur des vaccins sous-unités expérimentaux constitués de différents produits géniques. La Chine explore une troisième voie en faisant des recherches sur une autre souche atténuée de virus de la vaccine. Ces travaux, ainsi que ceux menés au Royaume-Uni, ont fait ressortir la nécessité de donner aux Etats Membres qui prennent part à ces recherches importantes des lignes directrices pour évaluer la qualité, l'innocuité et l'efficacité des vaccins antivarioliques de nouvelle génération.

18. **Recommandations du sous-comité technique.** Ainsi que l'avait recommandé le Comité à sa quatrième réunion, un groupe technique composé de spécialistes compétents en matière de sécurité biologique a été réuni par voie électronique pour examiner les recommandations actuelles concernant la sécurité des pratiques de recherche. Il s'est penché sur quatre questions : la manipulation simultanée de virus varioliques et d'autres orthopoxvirus ; la production de virus varioliques recombinés

exprimant des gènes rapporteurs qui codent pour des protéines faciles à doser ; l'insertion de gènes du virus variolique ou de séquences géniques « de type variolique » dans d'autres orthopoxvirus ; et la distribution entre laboratoires de fragments d'ADN du virus variolique.

19. Lorsqu'il a examiné le projet de recommandations du sous-comité, le Comité s'est attaché aux questions de sécurité et à l'intérêt scientifique des expériences envisagées par rapport au besoin urgent de nouveaux antiviraux et de vaccins plus sûrs.

20. Le Comité dans son ensemble a approuvé deux des recommandations du sous-comité. Il a estimé que la manipulation simultanée de virus varioliques et d'autres orthopoxvirus dans le même laboratoire de sécurité biologique niveau 4 ne posait pas de problème important à condition que tous les matériels infectés soient correctement décontaminés ou éliminés une fois l'expérience achevée. Il a jugé en outre que des fragments d'ADN du virus variolique d'une longueur maximum de 500 paires de base pouvaient être distribués librement entre les laboratoires pour servir de témoins positifs dans les nécessaires de diagnostic. Le Comité s'est prononcé contre la synthèse *in vitro* de fragments d'ADN à double brin dont la longueur dépasse 500 paires de base.

21. Certains membres du Comité ont émis d'importantes réserves quant au fait d'autoriser, dans des conditions bien précises, les expériences visant à générer des virus varioliques recombinés et à exprimer des gènes du virus variolique dans d'autres orthopoxvirus. Le Comité a donc décidé de consulter d'autres experts sur ces quatre questions par l'intermédiaire du groupe consultatif OMS sur la sécurité biologique et du Comité ad hoc sur les Orthopoxviroses avant de se prononcer définitivement sur la sécurité de telles expériences.

22. **Conclusions générales.** Le Comité a trouvé encourageants les progrès accomplis rapidement dans la mise au point de nouveaux antiviraux et de vaccins plus sûrs. Toutefois, il faut encore mener d'autres travaux importants. Les laboratoires qui effectuent des recherches approuvées devraient se voir offrir un appui suffisant pour atteindre le plus tôt possible les derniers objectifs de la recherche.

MESURES A PRENDRE PAR LE CONSEIL EXECUTIF

23. Le Conseil exécutif est invité à prendre note du présent rapport, qui sera transmis à l'Assemblée de la Santé.

= = =