



Erradicación de la viruela: conservación temporal de las existencias de virus variólico

Informe de la Secretaría

INTRODUCCIÓN

1. En mayo de 1999 la Asamblea de la Salud, por resolución WHA52.10, decidió autorizar que las reservas existentes de virus variólico se conservaran temporalmente hasta 2002, a más tardar, en los lugares de almacenamiento actuales,¹ con la finalidad de proceder a nuevas investigaciones internacionales. La Asamblea pidió a la Directora General que nombrara un nuevo grupo de expertos para determinar qué investigaciones, si procedía, debían realizarse con el fin de llegar a un consenso sobre la fecha de destrucción de las reservas de virus variólicos existentes.

2. De conformidad con esa resolución, se nombró un nuevo grupo de expertos; este Comité Asesor de la OMS en Investigaciones sobre el Virus Variólico está integrado por 16 miembros, representantes de todas las regiones de la OMS. En su primera reunión (Ginebra, 6-9 de diciembre de 1999), a la que asistieron asimismo 10 asesores en representación de la investigación básica y aplicada y de los organismos de reglamentación, el Comité acordó que se estableciera un subcomité científico encargado de supervisar las futuras investigaciones sobre virus variólico; los miembros de este subcomité provendrían del Comité Asesor en Investigaciones sobre el Virus Variólico. Se presentó un informe detallado al Consejo Ejecutivo en su 106ª reunión, en mayo de 2000.² La recomendación del Comité era que podía justificarse la realización de algunas investigaciones más con el virus variólico, pero bajo ninguna circunstancia deberían éstas prolongarse más allá del final de 2002.

REUNIÓN DEL COMITÉ ASESOR DE LA OMS EN INVESTIGACIONES SOBRE EL VIRUS VARIÓLICO (GINEBRA, 15-16 DE FEBRERO DE 2001)

3. Los tres objetivos principales de la reunión eran los siguientes:

- examinar los progresos realizados en los programas acordados de investigación sobre virus variólico;

¹ Centro Colaborador de la OMS sobre la Viruela y otras Poxvirosis, Centros de Control y Prevención de Enfermedades de Atlanta (Georgia, Estados Unidos de América); Centro colaborador de la OMS para el diagnóstico de las ortopoxvirosis y depositario de cepas y ADN de virus variólico, Centro Estatal de Investigaciones Viroológicas y Biotecnológicas «VECTOR» (Koltsovo, Región de Novosibirsk, Federación de Rusia).

² Documento EB106/3.

- determinar si esos progresos eran suficientes para que se procediera a la destrucción en la fecha prevista, en 2002;
- identificar toda brecha importante en el presente programa de investigaciones; y
- asesorar, según convenga, sobre otras posibles orientaciones de la investigación.

4. El Comité llegó a la conclusión de que se habían hecho progresos considerables en varias esferas de la investigación sobre virus variólico, a saber: el estado de las colecciones de cepas y la viabilidad de los virus aislados, el análisis filogenético, la detección y la diferenciación de ADN de ortopoxvirus, el análisis de la secuencia de nucleótidos de ADN de virus variólico, la detección serológica de virus variólico, agentes antivíricos y modelos animales de viruela.

5. **Estado de las colecciones de cepas y viabilidad de las cepas víricas aisladas.** Los Centros de Control y Prevención de Enfermedades conservan 451 cepas derivadas de varias colecciones nacionales diferentes. La mayor parte son aislamientos de virus variólico y se ha creado una base de datos para vincularlos con los datos diagnósticos y epidemiológicos disponibles. De las 49 cepas, sometidas a ulteriores análisis y seleccionadas según su procedencia geográfica, año de aislamiento y escaso número de pases, 45 se demostraron viables. Éstas provenían de Asia (21), África (16), Europa (5), América del Sur (2) y América del Norte (1). Se observó que muchas de ellas tenían placas de morfología uniforme y títulos elevados al multiplicarse en cultivos tisulares. De las 45 cepas aisladas viables, 37 provenían de material cultivado *in vitro* y el resto de muestras extraídas por escarificación (no habían sufrido pases).

6. Las muestras que se conservan actualmente en el Centro ruso, VECTOR, comenzaron a recogerse en Moscú a mediados del decenio de 1950. La colección aumentó con cepas obtenidas en Moscú por los que en ese momento eran centros colaboradores de la OMS sobre la viruela, durante los estudios de diagnóstico que respaldaron el programa de erradicación de la viruela. La colección actual comprende material primario (de escarificación), cultivos líquidos congelados y muestras liofilizadas. No todas las muestras han sido sometidas a pruebas de viabilidad; cinco aislamientos primarios (de material de escarificación), cuatro de los nueve cultivos congelados y las seis cepas liofilizadas tienen una viabilidad demostrable. Se ha tropezado con dificultades de financiación para trabajos ulteriores, pero ahora se prevé que se recibirán fondos.

7. Ha comenzado la cooperación entre el personal de los dos centros colaboradores a fin de velar por que todo trabajo futuro sobre caracterización vírica, incluso la transferencia de reactivos, esté coordinado de manera adecuada.

8. El Comité llegó a la conclusión de que posiblemente se necesite trabajar más para evaluar la viabilidad de las cepas conservadas en VECTOR y de que la caracterización molecular ulterior de un mayor número de cepas quizás sea útil para identificar cepas de las que se podrían determinar más secuencias de ADN.

9. **Análisis filogenético con tecnologías de amplificación de ADN.** Se han descrito varias técnicas basadas en la reacción en cadena de la polimerasa (RCP) para facilitar la caracterización y el análisis filogenético de cepas aisladas del virus variólico. Dichas técnicas comprendían la amplificación del polimorfismo de longitud de fragmentos de restricción con diversos cebadores («primers») y el análisis multiplex. Para comparar todos los ortopoxvirus se utilizaron como regla general cebadores complementarios de las secuencias en la región central conservada del genoma, mientras que para obtener datos sobre las especies y cepas específicas se utilizaron cebadores complementarios de las secuencias situadas en las

regiones terminales del genoma. El Comité llegó a la conclusión de que se habían hecho progresos significativos en la aplicación de la tecnología RCP a la investigación de las relaciones filogenéticas entre los ortopoxvirus, y en particular de los virus variólicos.

10. **Detección y diferenciación de ADN de ortopoxvirus.** Se describieron varios métodos que utilizaban tecnologías de amplificación de ADN para la detección y el diagnóstico subsiguiente de ortopoxvirus. Un objetivo muy importante de este trabajo es la identificación de virus variólicos en tiempo real. El procedimiento básico es semejante a los ya descritos para el análisis filogenético de diferentes aislamientos de virus variólico. La detección y la diferenciación de cepas de ortopoxvirus y cepas de diversos virus variólicos suele suponer la generación de productos amplificados por RCP procedentes de las regiones genómicas tanto conservadas como variables. Diferentes grupos han desarrollado diferentes plataformas para el proceso de detección de productos de ADN amplificados.

11. El Comité tomó nota de los enormes progresos realizados en esta esfera. Aunque una de las principales limitaciones de estos procedimientos radica en los métodos utilizados para obtener las muestras iniciales de ADN, se está comenzando a disponer de algunos procedimientos fiables y rápidos con reactivos que se venden en el mercado. El Comité también tomó nota de que la especificidad de los procedimientos dependía completamente de las secuencias de los cebadores utilizados para la amplificación. La detección de las secuencias de nucleótidos en el virus de la viruela vacuna que antes se consideraban específicas del virus variólico puso de relieve que la utilización de un solo locus para la amplificación por la RCP es insuficiente para una identificación inequívoca. Los miembros del Comité pusieron en entredicho la necesidad de procedimientos analíticos rápidos y suficientemente sensibles para diferenciar entre subespecies variólicas cuando el tratamiento clínico de los individuos infectados sería el mismo. Se reconoció que en situaciones de emergencia para la salud pública sería necesario poder detectar en tiempo real la presencia o ausencia de cualquier ortopoxvirus.

12. **Análisis de la secuencia de nucleótidos de ADN de virus variólico.** Se informó al Comité de que ahora se disponía de las secuencias de nucleótidos de tres genomas completos de virus variólico. También se habían determinado partes sustanciales de los genomas de otras tres cepas de virus variólico - Congo 70, Somalia 77 e India 7124. Se describió la secuencia completa del virus de la viruela de los camellos, el familiar más próximo conocido del virus variólico. También se dispone de muchos datos sobre la secuencia de algunos genes de varios otros ortopoxvirus.

13. Los datos obtenidos hasta el momento han confirmado las presuntas relaciones evolutivas entre ortopoxvirus y han facilitado la clasificación ulterior en subespecies de diferentes aislamientos de virus variólico. Para el final de 2002 se debería disponer al menos de seis secuencias genómicas completas de virus variólico. Tal vez sería posible obtener asimismo información sobre secuencias de material de escarificación que no ha sido sometido a pases *in vitro*. El Comité llegó a la conclusión de que se habían realizado muy buenos progresos en el análisis de secuencias genómicas de virus variólico.

14. **Detección serológica de virus variólico.** Se describieron trabajos realizados utilizando anticuerpos monoclonales y policlonales contra proteínas del virus vaccinia en pruebas de inmunosorción enzimática para detectar ortopoxvirus. Con esos reactivos, las pruebas permiten detectar diversos ortopoxvirus, entre ellos los de la viruela de los camellos, la viruela vacuna, la viruela de los monos y los virus vaccinia y variólico. La sensibilidad relativa para detectar los diferentes virus variaba y con ese método no era posible diferenciar entre cepas. Se está trabajando para determinar si las pruebas en las que se utilizan esos reactivos permiten diferenciar entre cepas vivas de virus variólico mayor y menor.

15. El Comité concluyó que se habían realizado trabajos muy útiles en esta esfera y que sería importante que todo anticuerpo monoclonal generado se caracterizara exhaustivamente respecto de las proteínas variólicas contra las que reacciona.

16. **Agentes antivíricos.** El cidofovir inhibe una amplia variedad de virus de ADN, entre ellos los ortopoxvirus. Su mecanismo de acción consiste en la inhibición selectiva de la polimerasa del ADN viral. Las pruebas *in vitro* de la actividad antivírica muestran que el cidofovir inhibe tanto el virus vaccinia como 35 cepas diferentes de virus variólico. Los aislamientos mostraron una sensibilidad semejante al medicamento y la inducción de mutaciones de resistencia no parece constituir un problema. Por lo tanto, se podrían desarrollar otros ortopoxvirus como modelos sucedáneos para el ensayo de medicamentos antivíricos después de que se hayan destruido las existencias de virus variólico. El Comité observó que se habían hecho progresos considerables.

17. **Modelos animales de viruela.** Se han realizado muchos trabajos sobre la infección por aerosol de macacos de Java con las cepas Yamada y Lee de virus variólico. Los signos clínicos aparecen en los animales infectados a los seis días de la infección. La enfermedad clínica es visible y los animales muestran seroconversión, pero no mortalidad. El Comité concluyó que este modelo no era idóneo para evaluar la eficacia de vacunas o medicamentos nuevos. Se esperan nuevos trabajos con diferentes cepas de virus variólicos y diferentes especies de primates, inclusive un posible proyecto de colaboración con científicos de VECTOR utilizando babuinos como modelo animal.

18. El Comité concluyó que los progresos eran satisfactorios, pero que el ritmo era lento. Tomó nota de los trabajos propuestos sobre la infección de babuinos, pero indicó que tal vez se requirieran más trabajos para identificar y caracterizar otros modelos sustitutivos en comparación con los de la infección por virus variólico a fin de establecer un sistema validado de evaluación de medicamentos y vacunas.

19. Se prevé que el Comité se volverá a reunir al final de 2001 y sus recomendaciones se someterán al Consejo Ejecutivo en su 109ª reunión, en enero de 2002.

INTERVENCIÓN DE LA ASAMBLEA DE LA SALUD

20. Se invita a la Asamblea de la Salud a tomar nota del informe.

= = =