ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD

CONSEJO EJECUTIVO **EB111/5**
111ª reunión **23 de diciembre de 2002**
Punto 5.3 del orden del día provisional

Erradicación de la viruela: destrucción de las reservas de *Variola virus*

Informe de la Secretaría

1. El Comité Asesor de la OMS en Investigaciones sobre el Virus Variólico fue creado en virtud de la resolución WHA52.10, por la que se autorizó que las reservas existentes de *Variola virus* se conservaran temporalmente hasta 2002 a más tardar, y con sujeción a un examen anual por la Asamblea de la Salud, en los lugares de almacenamiento actuales.[1] En la resolución se pedía también a la Directora General que nombrara a un grupo de expertos para que determinara qué investigaciones, si procedía, debían hacerse con el fin de llegar a un consenso mundial sobre la fecha de la destrucción de las reservas de virus variólico.

2. En la resolución WHA55.15, la Asamblea de la Salud autorizó a seguir conservando las reservas existentes de virus variólico vivo en el entendimiento de que todas las investigaciones seguirían estando orientadas a la obtención de resultados y serían de duración limitada. En la resolución se pedía a la Directora General que mantuviera las actividades del Comité Asesor, con inspecciones periódicas de los logros y resultados de las investigaciones, y que informara cada año a la Asamblea de la Salud, por conducto del Consejo Ejecutivo, sobre los progresos del programa de investigaciones y las cuestiones pertinentes.

3. En el presente documento se informa de la cuarta reunión del Comité (Ginebra, 20 y 21 de noviembre de 2002), en la que se examinaron los progresos de las investigaciones con virus variólico vivo realizadas desde la última reunión.[2]

CUARTA REUNIÓN DEL COMITÉ ASESOR DE LA OMS EN INVESTIGACIONES SOBRE EL VIRUS VARIÓLICO

4. En general, el Comité estimó que durante el último año se había progresado considerablemente en las investigaciones aprobadas con virus variólico vivo, pero observó que había que proseguir las investigaciones para poder lograr un consenso sobre la fecha de destrucción de las reservas de virus variólico existentes. Además, esas investigaciones adicionales debían seguir siendo vigiladas y examinadas atentamente bajo los auspicios de la OMS, y había que adoptar medidas para asegurar que

[1] Los Centros de Control y Prevención de Enfermedades de Atlanta (Georgia, Estados Unidos de América) y el Centro Estatal de Investigaciones Virológicas y Biotecnológicas de Rusia (Koltsovo, Región de Novosibirsk, Federación de Rusia).

[2] En el documento A55/21 figura un informe sobre la tercera reunión dirigido a la Asamblea de la Salud.

todas las investigaciones aprobadas sigan centrándose en los resultados, sean de duración limitada y se revisen periódicamente.

5. El Comité formuló las siguientes **recomendaciones**:

a) es preciso normalizar y mejorar los sistemas de inventario del material clínico y de los aislamientos y muestras de ADN del virus variólico en los dos centros de almacenamiento, y los dos grupos deberían intercambiar la información obtenida gracias a esos sistemas y dar cuenta de ella a la OMS por lo menos una vez al año;

b) tendría que haber a disposición de inspectores y auditores un registro del material utilizado para los trabajos en curso. El volumen de las suspensiones de virus vivo resultantes de los trabajos debería ser el mínimo necesario para realizar correctamente las investigaciones aprobadas;

c) siempre que sea posible habría que incluir en el inventario información sobre el origen, las propiedades biológicas, el número de pases y otras características del material conservado en cada depósito. La OMS acordó buscar información en los archivos para facilitar esa labor;

d) los aislamientos virales cuya conservación carece de justificación científica (en particular los virus quiméricos conservados en el depósito norteamericano) deben ser destruidos, previa comunicación de esa medida a los países donantes originarios;

e) los análisis de la secuencia de ADN deberían llevarse a cabo con material clínico nuevo debidamente autenticado y no clonado previamente;

f) deben proseguir los trabajos de perfeccionamiento del modelo símico de la viruela humana, para poder evaluar mejor los antivirales y vacunas experimentales;

g) se debe constituir urgentemente un grupo técnico especial, compuesto por expertos en seguridad conocedores del tema, que aborde la revisión de las directrices existentes sobre la manipulación simultánea de los virus variólicos y otros ortopoxvirus;

h) además, se debería encomendar al grupo técnico especial que preparase directrices sobre la distribución de fragmentos de ADN viral clonado, teniendo en cuenta los avances tecnológicos en materia de síntesis nucleotídica, y sobre las modificaciones efectuadas en los genomas de otros ortopoxvirus para asemejarlos más a las secuencias genéticas del virus variólico;

i) los laboratorios que lleven a cabo las investigaciones aprobadas deberían presentar cada año por escrito informes sobre los progresos realizados, para su eventual difusión al conjunto de la comunidad científica. Siempre que sea posible, las investigaciones deberían publicarse en revistas abiertas a la revisión por homólogos.

6. **Cepas virales conservadas en los dos depósitos.** De las 120 cepas de *Variola virus* del depósito ruso, se habían seleccionado 55 aislamientos para someterlos a más investigaciones, que incluían estudios de viabilidad, caracterización biológica y análisis del genoma. Hasta la fecha se han estudiado 39 aislamientos, de los que 29 han resultado viables. Se había aislado el ADN de los aislamientos no viables. El análisis de los 451 aislamientos del depósito norteamericano reveló que algunos de ellos correspondían al virus de la viruela símica, el virus de la viruela de los camellos o

virus quiméricos preparados mediante recombinación de virus variólicos con otros ortopoxvirus. Se conocía el origen geográfico y el año de aislamiento de 229 aislamientos; 50 de ellos fueron seleccionados para realizar nuevos estudios, en función del año y la región de aislamiento, el número de pases y la información clínica disponible, y se comprobó que 46 eran viables.

7. El Comité convino en que era necesario vigilar mejor los aislamientos de virus de los dos centros de almacenamiento y recomendó estandarizar y mejorar los sistemas de preparación de inventarios. Los dos centros de almacenamiento deberían compartir información sobre dichos controles y presentarla en formato impreso y electrónico a la OMS por lo menos una vez al año. El Comité recomendó además que los inspectores y los controladores pudieran acceder a los registros de las muestras de virus utilizadas en los trabajos en curso.

8. El Comité recomendó que el inventario incluyera a ser posible información sobre el origen, las propiedades biológicas, el número de pases y otras características del material conservado en cada centro de almacenamiento, y la OMS ofreció su ayuda para buscar en los archivos información sobre el origen de algunos aislamientos. El Comité recomendó además que se destruyeran los aislamientos cuya conservación no estuviera justificada desde el punto de vista científico, en particular los virus quiméricos conservados en el depósito norteamericano, y que se informara de este propósito a los países donantes originarios.

9. Se expresó cierta inquietud acerca del volumen de las suspensiones de virus vivos resultantes de las investigaciones aprobadas. El Comité recomendó que se mantuviera el volumen mínimo necesario para poder realizar los estudios convenidos en el marco de las recomendaciones del Comité.

10. El Comité recordó que la Comisión Mundial para la Certificación de la Erradicación de la Viruela recomendó en 1979 que no se llevaran a cabo investigaciones de poxvirus distintos del variólico o de la viruela blanca en condiciones que hicieran posible la contaminación cruzada de ambos agentes.[1] Considerando los cambios sufridos por los requisitos para el uso del virus variólico en experimentos concretos, por ejemplo en los ensayos paralelos de múltiples ortopoxvirus en pruebas de actividad antiviral, el Comité recomendó que se reuniera un grupo técnico especial para evaluar los aspectos de seguridad y estableciera directrices actualizadas.

11. **Análisis de la secuencia de ADN de *Variola virus*.** Han avanzado los trabajos de análisis de la secuencia de ADN de diversos aislamientos del virus variólico, y ya se dispone de 10 secuencias genómicas completas. Los investigadores del depósito norteamericano tienen previsto secuenciar por lo menos tres genomas completos más. Los trabajos emprendidos en el depósito ruso se han centrado en obtener datos sobre un número limitado de genes variables a partir de un número mayor de aislamientos. Estos trabajos han permitido analizar según diversos criterios la relación filogenética entre genes específicos de los genomas secuenciados. Los resultados mostraron claramente que las diferencias nucleotídicas no pueden servir de marcadores de la patogenicidad de los aislamientos derivados de brotes con distintas tasas de letalidad. El Comité, además, tomó nota del posible uso forense de los análisis de secuencias nucleotídicas para identificar la naturaleza y el origen de las cepas en caso de diseminación deliberada de *Variola virus*.

12. Los resultados obtenidos hasta la fecha no han revelado diferencias nucleotídicas entre el material procedente de los aislamientos primarios de escarificación y el de esas mismas muestras

[1] *Erradicación mundial de la viruela: informe final de la Comisión Mundial para la Certificación de la Erradicación de la Viruela, Ginebra, diciembre de 1979.* Ginebra, Organización Mundial de la Salud, 1980, Recomendación Nº 15.

después de dos pases. El Comité recomendó que se considerara la posibilidad de secuenciar material adicional derivado de material clínico autenticado que no haya sido clonado previamente.

13. Ha finalizado la construcción de una genoteca validada y certificada de fragmentos clonados de ADN de dos genomas completos de *Variola virus*, y se ha previsto realizar un trabajo similar con otras cinco cepas del virus. El Comité reconoció que este trabajo aportaría material para conservar a largo plazo genomas de *Variola virus,* pero puso en duda que las técnicas utilizadas permitieran representar fielmente la variabilidad dentro de cada cepa.

14. **Análisis del ADN de ortopoxvirus mediante la reacción en cadena de la polimerasa.** El equipo ruso ha iniciado análisis basados en la reacción en cadena de la polimerasa (RCP), y ha ampliado el estudio de los polimorfismos de longitud de los fragmentos de restricción + RCP con 24 aislamientos de cultivos celulares y ocho muestras extraídas por escarificación, con el fin de identificar distintas cepas, aislamientos o microheterogeneidades de origen génico. Estos trabajos han revelado variaciones sorprendentes entre aislamientos del mismo brote. El grupo norteamericano hizo un trabajo similar estudiando los polimorfismos de longitud de los fragmentos de restricción mediante electroforesis capilar, como método alternativo a las técnicas de electroforesis en gel.

15. **Pruebas diagnósticas basadas en la RCP.** Se han desarrollado variantes de la técnica de la reacción en cadena de la polimerasa con el fin específico de detectar el virus variólico en muestras con muy poca cantidad de ADN. Una técnica rigurosamente evaluada permite distinguir el virus variólico de los demás ortopoxvirus que infectan al hombre y de otros agentes infecciosos que provocan eritemas semejantes a los de la viruela. La técnica se considera lo bastante sensible para poder detectar tan sólo 50 copias del genoma de *Variola virus* en muestras obtenidas durante la fase prodrómica de la infección.

16. El Comité alentó a comunicar cuanto antes a la comunidad internacional los detalles de los nuevos métodos de detección basados en la reacción en cadena de la polimerasa, pero observó que su validación fuera de los dos centros podía revestir dificultad, debido a que, como consecuencia de las directrices actuales respecto a su suministro, no podría disponerse de fragmentos cortos de ADN del virus variólico clonado. El Comité recomendó que se encomendara al grupo técnico especial propuesto (véanse los párrafos 5(*g*) y 5(*h*)) la redacción de las directrices correspondientes, teniendo en cuenta los avances de las técnicas de síntesis nucleotídica.

17. **Pruebas serológicas.** El desarrollo de métodos sensibles de detección de antígenos del virus variólico ha tropezado con varias dificultades, entre ellas las relacionadas con la producción de anticuerpos monoclonales específicos contra *Variola virus*. El Comité consideró improbable que la sensibilidad de las pruebas serológicas llegara a ser comparable a la de los métodos basados en la RCP, y concluyó que dichas pruebas no serían de gran ayuda para diagnosticar precozmente la infección por *Variola virus*.

18. **Modelos animales.** Diversos experimentos han demostrado que cepas del virus variólico administradas a altas dosis pueden causar una infección letal en macacos de Java. Al utilizar dosis menores se retrasó ligeramente la aparición de los síntomas, lo que brinda un modelo posiblemente más útil para probar nuevas vacunas y agentes antivirales. No obstante, las altas dosis necesarias para provocar la enfermedad en estos animales hace que éstos sufran directamente la fase virémica, sin etapa prodrómica previa, y que mueran indefectiblemente de una enfermedad semejante a la viruela hemorrágica. Por estas razones, el Comité concluyó que el modelo no era el más apropiado, y que había que seguir trabajando para aumentar su utilidad como medio de evaluación de nuevas vacunas y medicamentos.

19. **Desarrollo de medicamentos antivirales.** El Comité tomó nota de los considerables esfuerzos desplegados tanto en instituciones públicas como en empresas privadas para hallar nuevos compuestos activos contra el virus variólico. El centro ruso había cribado 2432 compuestos para determinar su actividad inhibitoria, identificando así seis nuevos compuestos que iba a seguir probando en modelos animales. Se estaban llevando a cabo investigaciones similares para descubrir nuevos medicamentos en el Reino Unido de Gran Bretaña e Irlanda del Norte (con algunos resultados de interés en los que se profundizará en el centro de los Estados Unidos) y en los Estados Unidos de América, donde se habían identificado 40 compuestos de propiedades prometedoras.

20. En el actual modelo símico, el cidofovir protegió a los monos cuando se les administró 24 horas antes de la infección, pero no cuando se les administró 12 horas después. Estos resultados podrían explicarse por lo extremo del asalto necesario para inducir la enfermedad. Los datos obtenidos en experimentos de administración del virus de la viruela vacuna a roedores indican que el grado de eficacia del cidofovir depende en gran medida de la dosis de agente patógeno suministrada, y que sólo hay protección tras la infección cuando se han utilizado dosis pequeñas para desencadenarla.

21. El Comité observó que el cidofovir no es el medicamento más adecuado, debido a su nefrotoxicidad y a que debe administrarse por vía parenteral, y en consecuencia acogió con satisfacción los estudios de tres profármacos derivados del cidofovir que pueden administrarse por vía oral. Los resultados obtenidos contra la infección por el virus de la viruela vacuna en los roedores demostraron que estos medicamentos eran menos tóxicos y alcanzaban mayores concentraciones en plasma que el cidofovir. Sin embargo, antes de seis meses no se podrán hacer las pruebas con el modelo de viruela símica.

22. **Desarrollo de vacunas.** El Comité examinó cuatro programas de desarrollo de vacunas. Los trabajos del Reino Unido apuntaban a desarrollar vacunas de subunidades de segunda generación y se hallaban todavía en la fase de búsqueda de antígenos protectores adecuados. En el Reino Unido y en los Estados Unidos se había evaluado el uso del virus vaccinia Ankara modificado como posible vacuna viva atenuada. En los Estados Unidos estaban en sus primeras fases las investigaciones tendentes a desarrollar vacunas de ADN basadas en las secuencias codificadoras de cuatro antígenos.

23. **Discusión general.** En cuanto a la inmunoterapia pasiva, el Comité observó que no había pruebas concluyentes que justificaran el uso de la inmunoglobulina antivaccinia. Sin embargo, se está intentando crear animales transgénicos que produzcan inmunoglobulina antivaccinia humanizada.

24. Al discutir los aspectos de la seguridad, el Comité examinó la posible distribución de fragmentos cortos del ADN de *Variola virus* para usarlos con fines de validación de técnicas diagnósticas de RCP, la mutagénesis dirigida del ADN de *Vaccinia virus* para asemejarlo al virus variólico, la inserción de genes extraños en el virus variólico, y el uso simultáneo del virus variólico y de otros ortopoxvirus. Observó que, si bien las directrices actuales impiden esos trabajos, los importantes avances tecnológicos registrados desde la publicación de esas directrices pueden haberles restado pertinencia. No obstante, el Comité consideraba que carecía de los conocimientos especializados precisos para abordar esas importantes cuestiones y recomendó que se constituyera urgentemente un grupo técnico especial que poseyera tales conocimientos para examinar los problemas y orientar a la OMS.

25. En general, el Comité consideró alentadores los importantes avances logrados por las investigaciones del virus variólico y recomendó que prosiguieran los trabajos. Se pidió a los laboratorios que llevan a cabo investigaciones autorizadas que presenten informes escritos anuales sobre los progresos realizados para poder distribuirlos a toda la comunidad científica. El Comité

recomendó además que todas las investigaciones se publicaran en revistas abiertas al examen por expertos independientes.

INTERVENCIÓN DEL CONSEJO EJECUTIVO

26. Se invita al Consejo Ejecutivo a que tome nota del informe.

= = =