



# ВСЕМИРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ

ПЯТЬДЕСЯТ ЧЕТВЕРТАЯ СЕССИЯ  
ВСЕМИРНОЙ АССАМБЛЕИ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ  
Пункт 13.7 предварительной повестки дня

A54/16  
11 апреля 2001 г.

## Ликвидация оспы: временное сохранение запасов вируса натуральной оспы

### Доклад Секретариата

#### ВВЕДЕНИЕ

1. В мае 1999 г. Всемирная ассамблея здравоохранения резолюцией WHA52.10 постановила разрешить временное хранение в течение периода, не позднее 2002 г., остающиеся запасы вируса натуральной оспы в нынешних местах хранения<sup>1</sup> для проведения дальнейших исследований на международном уровне. Ассамблея предложила Генеральному директору назначить новую группу экспертов, которая определит, какие исследования должны быть проведены (если вообще возникнет необходимость) для достижения глобального консенсуса о времени уничтожения существующих запасов вируса натуральной оспы.

2. В соответствии с этой резолюцией была назначена новая группа экспертов; этот Консультативный комитет ВОЗ по научным исследованиям вируса натуральной оспы состоит из 16 членов, представляющих все регионы ВОЗ. На его первом заседании (Женева, 6-9 декабря 1999 г.), в котором приняли участие также 10 консультантов из учреждений, занимающихся фундаментальными и прикладными исследованиями, а также вопросами регламентации, Комитет решил, что необходимо создать научный подкомитет, который бы осуществлял контроль над будущими исследованиями вируса натуральной оспы, при том, что члены этого подкомитета будут выбраны из членов Консультативного комитета по научным исследованиям вируса натуральной оспы. Подробный доклад был представлен Сто шестой сессии Исполнительного комитета в мае 2000 года<sup>2</sup>. Комитет пришел к выводу, что дальнейшие ограниченные исследования с использованием запасов вируса натуральной оспы могут быть оправданы, однако ни при каких обстоятельствах они не должны продолжаться позже конца 2002 года.

---

<sup>1</sup> Сотрудничающий центр ВОЗ по оспенным и другим поксвирусным инфекциям: Центры по борьбе с болезнями и их предупреждению, Атланта, Джорджия, Соединенные Штаты Америки; сотрудничающий центр ВОЗ по ортопоксвирусной диагностике и хранилище штаммов вируса натуральной оспы и его ДНК, Государственный научно-исследовательский центр вирусологии и биотехнологии «Вектор», Кольцово, Новосибирская область, Российская Федерация.

<sup>2</sup> Документ EB106/3.

**ЗАСЕДАНИЕ КОНСУЛЬТАТИВНОГО КОМИТЕТА ВОЗ ПО  
ИССЛЕДОВАНИЯМ ВИРУСА НАТУРАЛЬНОЙ ОСПЫ (ЖЕНЕВА,  
15-16 ФЕВРАЛЯ 2001 г.)**

3. Перед этим заседанием были поставлены следующие основные задачи:

- провести обзор хода работы по согласованным программам исследований вируса натуральной оспы;
- определить, являются ли темпы этой работы достаточными, для того чтобы можно было произвести плановое уничтожение в назначенный срок в 2002 г.;
- выявить возможные серьезные пробелы в нынешней программе исследований; и
- высказать свое мнение в соответствующих случаях по другим возможным направлениям исследований.

4. Комитет пришел к выводу, что в некоторых областях исследований вируса натуральной оспы достигнуты значительные успехи: состояние коллекций штаммов и жизнеспособность вирусных изолятов, филогенетический анализ, определение и дифференциация ДНК ортопоксвирусов, анализ последовательностей нуклеотидных ДНК вируса натуральной оспы, серологическая детекция вируса натуральной оспы, противовирусные препараты и животные модели оспы.

5. **Состояние коллекций штаммов и жизнеспособность вирусных изолятов.** В Центрах по борьбе с болезнями и их предупреждению хранится 451 вирусный изолят из ряда различных национальных коллекций. Большинство из них - это изоляты вируса натуральной оспы, и для увязки их с имеющейся диагностической и эпидемиологической информацией создана база данных. Из 49 штаммов, отобранных на основе географических зон и годов изоляции, а также подвергавшиеся низкой степени пассирования, которые были подвергнуты дальнейшему анализу, 45 подтвердили свою жизнеспособность. Это изоляты из Азии (21), Африки (16), Европы (5), Южной Америки (2) и Северной Америки (1). Многие показали единообразную морфологию бляшек и достигали высокого титра в культурах ткани. Из 45 жизнеспособных изолятов 37 были выделены из культурного материала *in vitro*, а остальные - из образцов (не пассированных) струпов.

6. Образцы, хранящиеся в Российском центре «Вектор», начали собирать в Москве в середине 1950-х годов. Эта коллекция была пополнена изолятами, полученными из существовавшего тогда Сотрудничающего центра ВОЗ по оспе в Москве в процессе диагностических исследований, которые проводились в поддержку программы ликвидации оспы. Нынешняя коллекция включает первичный материал (струпы), замороженные жидкие культуры и лиофилизированные образцы. Не все образцы были проверены на жизнеспособность; пять первичных изолятов из струпов, четыре из девяти замороженных культур и все шесть лиофилизированных штаммов показали жизнеспособность. Были трудности в получении поддержки для дальнейшей работы, однако ныне финансирование ожидается.

7. Началось сотрудничество между персоналом обоих центров, с тем чтобы обеспечить адекватную координацию будущей работы по характеристике вирусов, включая передачу реактивов.

8. Комитет пришел к мнению, что, возможно, понадобится дополнительная работа для оценки жизнеспособности запасов, хранящихся в «Векторе», и что дальнейшая молекулярная характеристика дополнительных штаммов может оказаться ценной в плане содействия выявлению штаммов, на которых можно будет определить дальнейшие последовательности ДНК.

9. **Филогенетический анализ с использованием технологии амплификации ДНК.** Для облегчения характеристики и филогенетического анализа изолятов вируса натуральной оспы были описаны несколько методов, основанных на полимеразной цепной реакции (ПЦР), включая полиморфизм длины рестриционных фрагментов и продуктов ПЦР, амплифицированных различными праймерами, и мультиплексный ПЦР-анализ. Как общее правило для сравнения всех ортопоксвирусов использовались праймеры, комплементарные последовательностям в центральном консервативном районе генома, тогда как для обеспечения данных по конкретным видам и штаммам использовались праймеры, комплементарные последовательностям, расположенным ближе к терминальным районам генома. Комитет пришел к мнению, что в применении ПЦР-технологий для исследования филогенетических отношений между ортопоксвирусами, особенно вирусами натуральной оспы, достигнуты значительные успехи.

10. **Выявление и дифференциация ДНК ортопоксвирусов.** Было описано несколько методов использования технологий амплификации ДНК для выявления и последующей диагностики ортопоксвирусных инфекций. Основная цель этой работы – идентификация вирусов оспы в реальном времени. Используемые базовые процедуры аналогичны тем, которые уже описывались в отношении филогенетического анализа различных изолятов вируса натуральной оспы. Выявление и дифференциация штаммов ортопоксвирусов и отдельных штаммов вируса натуральной оспы обычно связаны с созданием ПЦР-амплифицированных продуктов как из консервативных, так и переменных районов генома. Различные группы разработали разные платформы для процесса выявления амплифицированных продуктов ДНК.

11. Комитет принял к сведению значительные достижения в этой области. Хотя одним из основных ограничений для этих процедур являются методы, используемые для получения изначальных образцов ДНК, становятся доступными некоторые надежные и быстрые процедуры, позволяющие использовать имеющиеся на рынке реагенты. Комитет также отметил, что специфичность процедур полностью зависит от последовательностей праймеров, используемых для амплификации. Выявление нуклеотидных последовательностей в вирусе коровьей оспы, которые первоначально считались специфическими для вируса натуральной оспы, подчеркивает то, что использование одного единого локуса для ПЦР-амплификации недостаточно для обеспечения недвусмысленной идентификации. Члены Комитета поставили под вопрос необходимость в быстрых аналитических процедурах, которые достаточно чувствительны для дифференциации между подвидами натуральной оспы, если клиническое лечение инфицированных лиц будет одинаковым. Было признано, что

способность выявлять присутствие или отсутствие каких-либо ортопоксвирусов в реальном времени будет необходима в экстренных медико-санитарных ситуациях.

**12. Анализ нуклеотидных последовательностей ДНК вируса натуральной оспы.** Комитету было сообщено, что в настоящее время определены последовательности нуклеотидов трех полных геномов вируса натуральной оспы. Также определены существенные части геномов трех других штаммов вируса натуральной оспы: Конго 70, Сомали 77 и Индия 7124. Была описана полная последовательность вируса верблюжьей оспы – ближайшего известного родственника вируса натуральной оспы. Имеется также много данных о последовательностях отдельных генов различных других ортопоксвирусов.

13. Полученные по настоящее время данные подтвердили подозреваемые эволюционные связи между ортопоксвирусами и облегчили дальнейшую классификацию различных изолятов натуральной оспы по подвидам. К концу 2002 г. должны быть получены последовательности, по меньшей мере, шести полных геномов вируса натуральной оспы. Возможно, также удастся получить информацию о последовательности из материала струпов, пассированных *in vitro*. Комитет пришел к заключению, что в анализе последовательностей геномов вирусов оспы достигнуты значительные успехи.

**14. Серологическая детекция вируса натуральной оспы.** Была описана работа по выявлению ортопоксвирусов с использованием моноклональных и поликлональных антител к протеинам вируса вакцинии с помощью энзимных иммуносорбентных проб ELISA. Используя эти реагенты, в таких тестах можно выявить различные ортопоксвирусы, включая верблюжью оспу, коровью оспу, обезьянью оспу, вакцинию и вирусы натуральной оспы. Относительная чувствительность для выявления различных вирусов варьировалась, и этим методом невозможно проводить дифференциацию штаммов. Ведется работа по определению того, можно ли дифференцировать живые штаммы *variola major* и *variola minor* тестами с использованием этих реагентов.

15. Комитет пришел к выводу, что в этой области было проведено много полезной работы, и что было бы важно обеспечить тщательную характеристику любых генерированных моноклональных антител в отношении тех протеинов натуральной оспы, против которых они реагируют.

**16. Противовирусные препараты.** Сидофовир ингибирует широкую гамму ДНК содержащих вирусов, включая ортопоксвирусы. Его механизм действия – селективная ингибция полимеразы вирусной ДНК. Испытания *in vitro* на противовирусную активность показывают, что сидофовир ингибирует как вакцинию, так и 35 различных изолятов вируса натуральной оспы. Каждый изолят обладает аналогичной чувствительностью к лекарству, и возникновение резистентных мутаций, по-видимому, не представляет проблемы. Поэтому после уничтожения запасов вируса натуральной оспы можно будет разработать другие ортопоксвирусы в качестве суррогатных моделей для испытания противовирусных препаратов. Комитет принял к сведению значительные успехи в этой области.

17. **Животные модели оспы.** Большая часть работы проводилась по аэрозольной инфекции обезьян вида *сynomolgus* штаммами Ямада и Ли вируса натуральной оспы. У животных признаки инфекции появлялись через шесть дней после инфицирования. Наблюдались клинические проявления болезни, и проходила противовирусная сероконверция, однако случаев смерти не было. Комитет пришел к выводу, что эта модель не пригодна для оценки эффективности новых вакцин или лекарств. Ожидается дальнейшая работа с различными штаммами вируса натуральной оспы и различными видами приматов, включая возможный сотруднический проект с учеными «Вектора», используя в качестве животной модели бабуинов.

18. Комитет пришел к выводу, что работа идет удовлетворительно, но медленно. Он принял к сведению предполагаемую работу по инфицированию бабуинов, однако указал, что, возможно, потребуются дополнительная работа для идентификации и дальнейшей характеристики суррогатных моделей по сравнению с моделями инфицирования вирусом натуральной оспы, с тем чтобы можно было установить проверенную систему для оценки лекарств и вакцин.

19. На конец 2001 г. запланировано еще одно заседание Комитета, и его рекомендации будут представлены Сто девятой сессии Исполнительного комитета в январе 2002 года.

## **ДЕЙСТВИЯ АССАМБЛЕИ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ**

20. Ассамблее здравоохранения предлагается принять доклад к сведению.

= = =