



## **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 actuels<sup>1</sup> 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. 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 qui devra examiner périodiquement les réalisations et les résultats des travaux de recherche et faire rapport chaque année sur les progrès accomplis par le programme de recherche et les questions pertinentes à l'Assemblée de la Santé, par l'intermédiaire du Conseil exécutif.

3. Le présent document contient le rapport de la quatrième réunion du Comité (qui s'est tenue à Genève les 20 et 21 novembre 2002), au cours de laquelle il a examiné les progrès des travaux de recherche sur le virus variolique vivant effectués depuis sa dernière réunion.<sup>2</sup>

### **QUATRIEME REUNION DU COMITE CONSULTATIF OMS DE LA RECHERCHE SUR LE VIRUS VARIOLIQUE**

4. Le Comité a estimé que, dans l'ensemble, les progrès accomplis au cours de l'année écoulée par les recherches approuvées sur le virus variolique vivant avaient été très importants, mais qu'il fallait encore poursuivre les travaux avant que l'on puisse parvenir à un consensus sur la date de destruction des stocks de virus restants. En outre, ces recherches supplémentaires devraient continuer d'être suivies de près et passées en revue sous les auspices de l'OMS, et des mesures devraient être prises

---

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

<sup>2</sup> Voir le document A55/21 qui contient le rapport de la troisième réunion à l'Assemblée de la Santé.

pour faire en sorte que toutes les recherches approuvées restent axées sur les résultats et limitées dans le temps, et qu'elles soient périodiquement réexaminées.

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

- a) les systèmes utilisés pour inventorier les échantillons cliniques ainsi que les isolements et l'ADN du virus variolique détenus dans les deux conservatoires devraient être normalisés et améliorés, et les informations ainsi obtenues devraient être partagées par les deux groupes et communiquées à l'OMS au moins une fois par an ;
- b) les dossiers concernant le matériel biologique utilisé pour les travaux en cours devraient être disponibles pour inspection et contrôle. Les volumes de suspension de virus vivants produits à la suite de ces travaux ne devraient pas dépasser le minimum nécessaire pour mener à bien les recherches approuvées ;
- c) dans la mesure du possible, l'inventaire devrait comporter des renseignements sur l'origine, les propriétés biologiques, les passages antérieurs et autres caractéristiques du matériel biologique détenu dans chaque conservatoire. L'OMS a accepté de rechercher des renseignements dans ses archives afin de faciliter ce travail ;
- d) les isolements de virus dont la détention ne se justifie pas scientifiquement (en particulier les virus chimères de la collection américaine) devraient être détruits une fois les pays à l'origine des dons informés de cette intention ;
- e) le séquençage de l'ADN devrait être effectué sur d'autres échantillons cliniques authentifiés, sans clonage préalable ;
- f) il conviendrait de poursuivre les travaux afin d'améliorer le modèle primate de la variole humaine, de manière à pouvoir mieux l'utiliser pour évaluer les vaccins et les agents antiviraux candidats ;
- g) un groupe technique composé de spécialistes compétents en matière de sécurité biologique devrait être réuni sans délai afin de se pencher sur la révision des recommandations existantes au sujet de la manipulation simultanée de virus varioliques et d'autres orthopoxvirus ;
- h) ce groupe technique devrait être également chargé d'établir des principes directeurs concernant, d'une part, la distribution de fragments d'ADN viral cloné compte tenu des progrès réalisés dans les techniques de synthèse nucléotidique, et, d'autre part, la modification d'autres génomes orthopoxviraux en vue de les rapprocher davantage des séquences géniques du virus variolique ;
- i) les laboratoires qui effectuent des recherches approuvées devraient préparer chaque année un rapport de situation écrit qui, le moment venu, serait plus largement diffusé dans la communauté scientifique. Dans la mesure du possible, ces recherches devraient être publiées dans la littérature non classifiée contrôlée par des pairs.

6. **Souches virales détenues dans les deux conservatoires.** Sur les 120 souches de virus variolique qui figurent dans la collection russe, 55 isolements ont été choisis en vue d'investigations plus poussées comportant des études de viabilité, une caractérisation biologique et une analyse génomique. Jusqu'ici, 39 isolements ont été étudiés dont 29 se sont révélés viables. L'ADN des

isolements non viables a été isolé. L'analyse des 451 isolements de la collection américaine a révélé qu'il s'agissait pour un certain nombre d'entre eux d'orthopoxvirus simiens, d'orthopoxvirus de chameau ou de virus chimères préparés par recombinaison de virus variolique avec d'autres orthopoxvirus. L'origine géographique et l'année d'isolement sont connues pour 229 de ces isolements, 50 d'entre eux ont été choisis en vue d'une étude plus approfondie en fonction de l'année et de la région d'isolement, des passages antérieurs et des données cliniques, et 46 se sont révélés viables.

7. Le Comité a admis qu'il était nécessaire de mieux contrôler les isolements viraux appartenant aux deux collections, et il a recommandé que les systèmes destinés à la préparation des inventaires soient améliorés et normalisés. Les informations tirées de ces contrôles devraient être partagées entre les deux conservatoires et communiquées une fois par an à l'OMS, à la fois sur support papier et sur support électronique. Le Comité a également recommandé que les dossiers relatifs aux échantillons contenant des virus qui sont utilisés pour les travaux en cours soient disponibles pour inspection et contrôle.

8. Le Comité a recommandé que, dans la mesure du possible, l'inventaire comporte des renseignements sur l'origine, les propriétés biologiques, les passages antérieurs et autres caractéristiques du matériel biologique détenu dans chaque conservatoire, et l'OMS a accepté de prêter son concours en procédant au dépouillement de ses archives à la recherche d'informations sur l'obtention de certains isolements. Le Comité a également recommandé que les isolements dont le maintien ne pouvait pas être justifié scientifiquement, en particulier les virus chimères qui appartiennent à la collection américaine, soient détruits, et que les pays à l'origine des dons soient informés de cette intention.

9. Le volume des suspensions de virus vivants produits à la suite des recherches approuvées constitue un sujet de préoccupation. Le Comité a recommandé que ces volumes ne dépassent pas le minimum nécessaire pour mener à bien les études approuvées dans le cadre des recommandations qu'il a formulées.

10. Le Comité a rappelé la recommandation émise en 1979 par la Commission mondiale pour la Certification de l'Éradication de la Variole selon laquelle « la recherche sur les poxvirus autres que les virus variolique ou whitepox devrait être bannie s'il existe un risque quelconque de contamination croisée avec ces deux agents ».<sup>1</sup> Comme les besoins de manipulation du virus variolique pour des expériences déterminées, par exemple l'utilisation en parallèle d'orthopoxvirus multiples dans des tests d'activité antivirale, ont évolué par la suite, le Comité a recommandé qu'un groupe technique comportant des spécialistes de la sécurité biologique soit constitué afin d'examiner les questions de sécurité et de formuler des lignes directrices actualisées.

11. **Analyse des séquences de l'ADN du virus variolique.** Le travail d'analyse des séquences de l'ADN provenant de diverses souches de virus variolique a progressé et on dispose maintenant de 10 séquences géniques complètes. Les chercheurs du conservatoire américain envisagent de séquencer au moins trois autres génomes complets. Les travaux du conservatoire russe ont porté sur l'obtention de données concernant un nombre limité de gènes variables provenant de nombreux isolements. Ces travaux ont permis d'analyser, en fonction de divers critères, les relations phylogénétiques qui existent entre certains gènes appartenant aux génomes séquencés. Les résultats obtenus montrent clairement

---

<sup>1</sup> *L'éradication mondiale de la variole : rapport final de la Commission mondiale pour la Certification de l'Éradication de la Variole, Genève, décembre 1979.* Genève, Organisation mondiale de la Santé, 1980. (Recommandation 15).

que les variations touchant les nucléotides ne peuvent pas être utilisées comme marqueurs de la pathogénicité des isolaments obtenus lors de flambées comportant différents taux de létalité. Le Comité a également pris note de la possibilité d'utiliser l'analyse des séquences nucléotidiques à des fins médico-légales pour l'identification des souches et de leur origine en cas de propagation délibérée de virus variolique.

12. Les résultats obtenus jusqu'ici n'ont révélé aucune variation entre les séquences nucléotidiques des échantillons provenant d'isolaments primaires obtenus à partir de croûtes et celles de ces mêmes échantillons après deux passages. Le Comité a recommandé d'envisager le séquençage d'échantillons supplémentaires provenant de matériel clinique authentifié et sans clonage préalable.

13. On a achevé la constitution d'une bibliothèque validée et certifiée de fragments d'ADN provenant de deux génomes complets de virus varioliques clonés et un travail analogue est envisagé sur cinq souches virales supplémentaires. Le Comité a reconnu que ce travail fournirait du matériel pour la conservation à long terme des génomes de virus variolique, mais il a émis des doutes sur la question de savoir si les techniques utilisées permettraient une représentation fidèle de la variabilité interne d'une souche donnée.

14. **Analyse par amplification génique (PCR) de l'ADN des orthopoxvirus.** L'équipe russe a entrepris une analyse par amplification génique (PCR) portant sur 24 isolaments en culture cellulaire et 8 échantillons de croûtes afin d'appliquer cette technique à la caractérisation de différents isolaments, souches ou microhétérogénéités liées aux gènes. Ces travaux ont révélé de surprenantes variations entre les isolaments provenant d'une même flambée. Le groupe américain a effectué des travaux analogues en utilisant l'électrophorèse capillaire pour l'analyse du polymorphisme de longueur des fragments de restriction à la place des techniques d'électrophorèse en gel.

15. **Tests diagnostiques par amplification génique (PCR).** Des variantes de la PCR ont été élaborées spécialement dans le but de déceler la présence de virus variolique dans des échantillons contenant des quantités minimales d'ADN. Une technique, qui a fait l'objet d'une très large évaluation, permet de différencier le virus variolique des autres orthopoxvirus qui infectent l'homme et d'autres agents infectieux responsables d'éruptions analogues à celle de la variole. Cette technique est jugée suffisamment sensible pour permettre de déceler seulement 50 copies du génome du virus variolique dans des échantillons obtenus au stade prodromique de l'infection.

16. Le Comité a souhaité que les détails des nouvelles méthodes de détection fondées sur la PCR soient partagés le plus tôt possible avec la communauté internationale, mais il a noté que leur validation en dehors des deux établissements pouvait poser des problèmes en raison de l'absence de courts fragments d'ADN issus de virus varioliques clonés, absence qui s'explique par le respect des recommandations actuelles relatives à la fourniture de ce matériel biologique. Le Comité a recommandé que le groupe technique dont il a proposé la constitution (voir paragraphes 5.g) et h)) soit chargé d'établir des principes directeurs appropriés prenant en considération les progrès réalisés dans les techniques de synthèse nucléotidique.

17. **Epreuves sérologiques.** Un certain nombre de difficultés, tenant notamment à des problèmes dans la production d'anticorps monoclonaux spécifiquement dirigés contre le virus variolique, font obstacle à la mise au point de méthodes sensibles pour la recherche des antigènes du virus variolique. Le Comité a estimé que la sensibilité des épreuves sérologiques ne serait vraisemblablement pas à la hauteur de celle des méthodes basées sur la PCR, et il a conclu que les épreuves sérologiques ne seraient pas d'une grande utilité pour le diagnostic précoce de l'infection par le virus variolique.

18. **Modèles animaux.** L'expérimentation animale montre que les souches de virus variolique sont capables, lorsqu'elles sont administrées en fortes doses, de provoquer une infection mortelle chez le singe cynomolgus. L'utilisation de doses plus faibles retarde légèrement l'apparition des symptômes, ce qui permettrait de disposer ainsi d'un modèle plus utile pour l'évaluation des vaccins et des agents antiviraux candidats. Toutefois, en raison des fortes doses nécessaires pour provoquer la maladie chez ces animaux, on saute le stade prodromique pour passer directement au stade virémique, avec des animaux qui meurent invariablement d'une maladie évoquant une variole hémorragique. Le Comité en a conclu que le modèle n'était pas idéal et que les travaux devaient être poursuivis pour mieux l'adapter à l'évaluation des vaccins et médicaments candidats.

19. **Mise au point d'antiviraux.** Le Comité a pris note des efforts très importants qui sont consentis tant dans les établissements publics que dans les entreprises privées pour découvrir de nouveaux composés actifs contre le virus variolique. L'établissement russe a examiné 2432 composés à la recherche d'une activité inhibitrice, et il a identifié 6 nouveaux composés qui seront testés ultérieurement sur des modèles animaux. Des recherches du même genre sont en cours au Royaume-Uni de Grande-Bretagne et d'Irlande du Nord (les filières prometteuses sont testées par l'établissement américain) ainsi qu'aux Etats-Unis d'Amérique où un total de 40 autres molécules chefs de file se sont révélées prometteuses.

20. Sur le modèle primate actuel, le cidofovir est capable de protéger les singes lorsqu'il est administré 24 heures avant l'infection, mais il ne confère aucune protection lorsqu'il est administré 12 heures après. L'importance de la dose d'épreuve virulente nécessaire pour provoquer la maladie pourrait expliquer ces résultats. Les résultats d'expériences sur la souris à l'aide du virus de l'orthopoxvirose bovine et du virus de la vaccine montrent que l'efficacité du cidofovir dépend beaucoup de la dose d'épreuve virulente et que cette molécule n'est capable de conférer une protection après l'infection que lorsque cette infection a été communiquée à l'aide de faibles doses.

21. Le Comité a noté que le cidofovir ne constituait pas un médicament idéal en raison de sa néphrotoxicité et de la nécessité de l'administrer par voie parentérale ; c'est pourquoi, il s'est félicité des études sur trois prodrogues dérivées du cidofovir qui sont susceptibles d'être administrées par voie orale. Les résultats obtenus contre l'infection par le virus de l'orthopoxvirose bovine chez la souris montrent que ces molécules sont moins toxiques que le cidofovir et donnent lieu à des concentrations plasmatiques plus élevées. Toutefois, leur expérimentation sur le modèle primate de la variole n'aura pas lieu avant six mois.

22. **Mise au point de vaccins.** Le Comité s'est penché sur quatre programmes de mise au point de vaccins. Au Royaume-Uni, les travaux en vue de mettre au point un vaccin sous-unités de deuxième génération en sont encore au stade de la recherche d'antigènes protecteurs convenables. Des travaux ont été également effectués tant au Royaume-Uni qu'aux Etats-Unis en vue d'évaluer le virus Ankara, qui est un virus de la vaccine modifié et serait envisagé sous forme de vaccin vivant atténué. Les recherches menées aux Etats-Unis dans le but d'élaborer des vaccins à ADN utilisant les séquences codant pour quatre antigènes en sont encore au premier stade.

23. **Discussion générale.** En ce qui concerne l'immunothérapie passive, le Comité a noté qu'on ne disposait pas de preuves solides d'un effet bénéfique de l'immunoglobuline antivaccine. Cependant, des travaux sont en cours afin de créer des animaux transgéniques capables de produire une immunoglobuline antivaccine humanisée.

24. En débattant des questions de sécurité biologique, le Comité a envisagé la possibilité de distribuer de courts fragments d'ADN du virus variolique utilisables pour valider les techniques de diagnostic par amplification génique, pour la mutagenèse dirigée de l'ADN du virus de la vaccine afin

de le rendre plus proche de celui du virus variolique, pour l'insertion de gènes étrangers dans le virus variolique ainsi que l'utilisation simultanée du virus variolique et d'autres orthopoxvirus. Il a noté que si les principes directeurs actuels interdisent ce genre de travaux, les progrès technologiques considérables accomplis depuis que ces principes ont été rendus publics pourraient en réduire sensiblement la validité. Le Comité a toutefois estimé ne pas posséder de compétences suffisantes sur ce point particulier pour traiter ces importantes questions et il a recommandé que soit constitué sans délai un groupe technique doté des compétences nécessaires afin d'examiner tous ces points et de conseiller l'OMS.

25. D'une façon générale, le Comité a trouvé encourageants les progrès très importants accomplis par la recherche sur le virus variolique et il a recommandé la poursuite de ces travaux. Il a été demandé aux laboratoires qui effectuent des recherches approuvées de préparer chaque année un rapport de situation écrit qui, le moment venu, pourra être plus largement diffusé dans l'ensemble de la communauté scientifique. Le Comité a également recommandé que toutes les recherches soient publiées dans la littérature non classifiée contrôlée par des pairs.

26. Le Conseil exécutif a pris note du rapport résumant les recommandations du Comité,<sup>1</sup> à sa cent onzième session en janvier 2003.<sup>2</sup>

## **MESURES A PRENDRE PAR L'ASSEMBLEE DE LA SANTE**

27. L'Assemblée de la Santé est invitée à prendre note du rapport.

= = =

---

<sup>1</sup> Document EB111/5.

<sup>2</sup> Voir le document EB111/2003/REC/2, procès-verbal de la cinquième séance.