



ВСЕМИРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ

ПЯТЬДЕСЯТ ШЕСТАЯ СЕССИЯ
ВСЕМИРНОЙ АССАМБЛЕИ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
Пункт 14.6 предварительной повестки дня

A56/14
13 марта 2003 г.

Ликвидация оспы: уничтожение запасов *вируса натуральной оспы*

Доклад Секретариата

1. Консультативный комитет ВОЗ по изучению вируса натуральной оспы был создан в соответствии с резолюцией WHA52.10, в которой разрешается временное хранение существующих запасов *вируса натуральной оспы* в двух местах¹, не позднее, чем до 2002 г. и при условии ежегодного рассмотрения этого вопроса Ассамблеей здравоохранения. В этой резолюции также предлагается Генеральному директору назначить группу экспертов для определения того, какие исследования должны быть проведены (если вообще возникнет в них необходимость), для достижения согласия в отношении сроков уничтожения запасов вируса.
2. В резолюции WHA55.15 Ассамблея здравоохранения разрешила дальнейшее временное хранение существующих запасов вируса натуральной оспы при условии, что все утвержденные исследования будут оставаться ориентированными на результаты и ограниченными во времени. В этой резолюции Генеральному директору предлагается продолжить работу Консультативного комитета, который должен периодически рассматривать достижения и результаты исследований и ежегодно представлять доклад о ходе работы программы исследований и соответствующих вопросах Ассамблее здравоохранения через Исполнительный комитет.
3. В настоящем документе представлен доклад о четвертом совещании Комитета (Женева, 20 и 21 ноября 2002 г.), на котором был рассмотрен прогресс в исследованиях, использующих живой *вирус натуральной оспы*, проведенных после его последнего совещания².

¹ Российский государственный научно-исследовательский центр вирусологии и биотехнологии, Кольцово, Новосибирская область, Российская Федерация, а также Центры борьбы с болезнями и профилактики болезней, Атланта, Джорджия, Соединенные Штаты Америки.

² См. документ A55/21, в котором содержится доклад Ассамблеи здравоохранения о третьем совещании.

ЧЕТВЕРТОЕ СОВЕЩАНИЕ КОНСУЛЬТАТИВНОГО КОМИТЕТА ВОЗ ПО ИЗУЧЕНИЮ ВИРУСА НАТУРАЛЬНОЙ ОСПЫ

4. В целом Комитет признал, что прогресс в течение прошлого года в утвержденных исследованиях с использованием живого *вируса натуральной оспы* был значительным, но что дальнейшие исследования по-прежнему необходимы, прежде чем можно будет достичь консенсуса в отношении даты уничтожения остающихся запасов вируса. Эти дополнительные исследования должны продолжаться под внимательным контролем и при рассмотрении под эгидой ВОЗ, и следует продолжить принятие мер для обеспечения такого положения, при котором все утвержденные исследования будут ориентированы на результаты, ограничены во времени и периодически рассматриваться.

5. Комитет сделал следующие **рекомендации**:

(a) системы для составления перечней клинических материалов и изолятов *вируса натуральной оспы* и ДНК в этих двух местах хранения должны быть стандартизованы и улучшены; кроме того, следует обмениваться информацией, полученной этими системами, между этими двумя группами и сообщать ее в ВОЗ по крайней мере один раз в год;

(b) регистрационные данные о материалах, использованных для ведущейся работы, должны быть в наличии для инспекции и проверки. Объемы суспензии живого вируса, полученной в результате этой работы, следует сохранять на минимальном уровне, необходимом для успешного завершения утвержденных исследований;

(c) по возможности, в перечни следует включать информацию о происхождении, биологических характеристиках, динамике пассирования и других характеристиках материала, остающегося в каждом месте хранения. Для содействия этой работе ВОЗ согласилась осуществить поиск информации из архивных записей;

(d) вирусные изоляты, сохранение которых не имеет научного обоснования (особенно химерные вирусы, хранящиеся в американской коллекции), следует уничтожить после информирования об этом намерении стран, предоставивших этот материал;

(e) анализ последовательности ДНК следует проводить на дополнительном, проверенном на аутентичность, клиническом материале без предварительного клонирования;

(f) следует провести дальнейшую работу по уточнению основанной на приматах модели оспы человека, с тем чтобы содействовать ее лучшему использованию при оценке вакцин-кандидатов и антивирусных агентов;

(g) следует в неотложном порядке созвать техническую группу, состоящую из соответствующих экспертов по вопросам безопасности, для изучения вопроса о пересмотре существующих руководящих принципов в отношении одновременного обращения с вирусами натуральной оспы и другими ортопоксвирусами;

(h) кроме того, этой технической группе следует поручить составление руководящих принципов в отношении распределения фрагментов ДНК клонированных вирусов, учитывая прогресс, достигнутый в технологиях нуклеотидного синтеза, и в отношении модификации других геномов ортопоксвируса для приведения в более тесное соответствие с последовательностями генов *вируса натуральной оспы*;

(i) в лабораториях, проводящих утвержденные исследования, должны составляться письменные ежегодные доклады о ходе работы для их возможного распространения в более широких научных кругах. По возможности, эти исследования следует публиковать в открытой литературе для коллег.

6. **Вирусные штаммы в двух местах хранения.** Из 120 штаммов *вируса натуральной оспы* в российской коллекции 55 изолятов были отобраны для дальнейшего изучения, в том числе для определения жизнеспособности, биологических характеристик и анализа генома. К настоящему времени изучено 39 изолятов, из которых 29 признаны жизнеспособными. ДНК были выделены из нежизнеспособных изолятов. Анализ 451 изолята в американской коллекции выявил, что некоторые из них являются *Monkeypox virus*, *Camelpox virus* или химерными вирусами, подготовленными для рекомбинации вирусов натуральной оспы с другими ортопоксвирусами. Географическое происхождение и год изоляции были известны для 229 изолятов; 50 из них были отобраны для дальнейшего изучения на основе года и региона выделения, динамики пассирования и клинической информации, а 46 оказались жизнеспособными.

7. Комитет согласился с необходимостью улучшить проверку вирусных изолятов в обеих коллекциях и рекомендовал усовершенствовать и стандартизовать системы для подготовки инвентарных перечней. Информацией, полученной в результате таких проверок, следует обмениваться между этими двумя местами хранения и представлять ее в ВОЗ как в напечатанном виде, так и в электронной форме, по крайней мере один раз в год. Комитет далее рекомендовал, чтобы регистрационные записи об образцах, содержащих вирусы, используемые для текущей работы, были в наличии для инспекции и проверки.

8. Комитет рекомендовал, чтобы, по возможности, в эти перечни включалась информация о происхождении, биологических свойствах, динамике пассирования и других характеристиках материалов, хранящихся в каждом месте хранения, и ВОЗ согласилась оказать помощь посредством поиска информации в архивных записях об источнике происхождения некоторых изолятов. Комитет далее рекомендовал, чтобы изоляты, сохранение которых не является научно оправданным, особенно химерных вирусов, хранящихся в американской коллекции, были уничтожены, и чтобы страны, первоначально предоставившие такие изоляты, были проинформированы об этом намерении.

9. Была выражена некоторая обеспокоенность в отношении объемов суспензии живого вируса, получаемых в результате утвержденных исследований. Комитет рекомендовал, чтобы эти материалы сохранялись в минимальном количестве, необходимом для

успешного завершения исследований, согласованных в рамках рекомендаций Комитета.

10. Комитет напомнил сделанную в 1979 г. рекомендацию Глобальной комиссии по сертификации ликвидации оспы о том, что "[...] исследования иных поксвирусов, чем вирус натуральной оспы или вирус белой оспы, не должны проводиться в условиях, когда существует любая возможность перекрестного заражения этими двумя агентами"¹. Поскольку требования в отношении обращения с *вирусом натуральной оспы* в конкретных экспериментах впоследствии изменились, например в отношении одновременного испытания множественных ортопоксвирусов в пробах на антивирусную активность, Комитет рекомендовал, чтобы была создана техническая группа, включающая экспертов по безопасности, для оценки вопросов, связанных с безопасностью и обновлением руководящих принципов.

11. **Анализ последовательностей ДНК вируса натуральной оспы.** Работа над анализом последовательностей ДНК из различных штаммов *вируса натуральной оспы* значительно продвинулась, и в настоящее время имеется 10 полных геномных последовательностей. Исследователи в американском хранилище планируют определить последовательности, по крайней мере, еще трех полных геномов. Работа в российском хранилище сосредоточена на получении данных об ограниченном числе изменчивых генов из значительного числа изолятов. Эта работа дала возможность установить филогенетические связи между конкретными генами, содержащимися в секвенированных геномах, подлежащих анализу с помощью различных критериев. Полученные результаты четко показали, что нуклеотидную изменчивость невозможно использовать в качестве маркера патогенности среди изолятов, полученных из вспышек с различными коэффициентами летальности. Комитет далее отметил потенциальные возможности использования анализа нуклеотидной последовательности в судебных разбирательствах для определения штаммов и их происхождения в случае преднамеренного высвобождения *вируса натуральной оспы*.

12. Полученные до настоящего времени результаты свидетельствуют об отсутствии изменчивости в нуклеотидной последовательности между материалом, взятом из изолятов первичного струпа, и материалом из тех же образцов после двух пассажей. Комитет рекомендовал рассмотреть для анализа последовательности дополнительный материал, полученный из клинического материала, с установленной аутентичностью и без предварительного клонирования.

13. Проверенная и сертифицированная библиотека фрагментов ДНК из двух полных геномов клонированного *вируса натуральной оспы* была завершена, и планируется провести подобную работу с пятью дополнительными штаммами вируса. Комитет признал, что эта работа даст материал для долгосрочного сохранения геномов *вируса*

¹ Глобальная ликвидация оспы: заключительный доклад Глобальной комиссии по сертификации ликвидации оспы, Женева, декабрь 1979 года. Женева, Всемирная организация здравоохранения, 1980 год. Рекомендация (15).

натуральной оспы, но выразил сомнения в отношении того, что эти процедуры дадут достоверное представление об изменчивости в штамме.

14. Анализ ортопоксвирусной ДНК на основе полимеразной цепной реакции. Российская группа начала проведение анализа с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) и распространила ПЦР полиморфизм длин рестрикционных фрагментов на 24 изолята культуры клеток и 8 образцов струпа в целях использования этих процедур для установления характеристик различных штаммов, изолятов или геннозависимых микрогетерогенностей. В результате этой работы были выявлены удивительные вариации между изолятами из одной и той же вспышки. Американская группа провела подобную работу с помощью капиллярного электрофореза полиморфизма рестрикционных фрагментов в качестве альтернативы методу электрофореза с помощью геля.

15. Диагностические испытания на основе ПЦР. Различные варианты метода ПЦР были разработаны специально для выявления *вируса натуральной оспы* в образцах, содержащих незначительное количество ДНК. Одна процедура, прошедшая широкую оценку, дала возможность отличить *вирус натуральной оспы* от других ортопоксвирусов, которые инфицируют людей, и других инфекционных агентов, которые вызывают сыпь, похожую на оспу. Эта процедура считается достаточно чувствительной для выявления всего лишь 50 копий генома *вируса натуральной оспы* в образцах, полученных во время продромальной стадии инфекции.

16. Комитет предложил как можно скорее обменяться подробной информацией о новых методах выявления на основе ПЦР с международным сообществом, но отметил, что их проверка за пределами двух центров может создать проблемы в связи с отсутствием коротких фрагментов ДНК из клонированного *вируса натуральной оспы* в результате соблюдения нынешних руководящих принципов, касающихся снабжения этими материалами. Комитет рекомендовал, чтобы предложенной технической группе (см. пункт 5(g) и (h)) было поручено составление соответствующих руководящих принципов с учетом прогресса, достигнутого в технологиях, связанных с синтезом нуклеотидов.

17. Серологический анализ. Ряд трудностей, включая проблемы в получении моноклональных антител, специфичных на *вирус натуральной оспы*, не дали возможности разработать чувствительные методы для выявления антигенов к *вирусу натуральной оспы*. Комитет признал маловероятным, что чувствительность серологических анализов приблизится к чувствительности методов ПЦР, и пришел к выводу, что серологический анализ внесет незначительный вклад в раннюю диагностику инфекции *вируса натуральной оспы*.

18. Животные модели. Эксперименты показали способность штаммов *вируса натуральной оспы* при введении высоких доз вызывать летальную инфекцию у обезьян *супотолгус*. Использование более низких доз привело к несколько более позднему наступлению симптомов, что дало более полезную модель для испытания вакцин-кандидатов и противовирусных агентов. Однако высокие дозы, необходимые для индуцирования болезни у этих животных, привели к отсутствию продромальной стадии

и непосредственному наступлению вирусемической стадии, причем инфицированные животные неизменно умирали от болезни, которая напоминает геморрагическую оспу. По этим причинам Комитет сделал вывод, что эта модель не является идеальной и что необходима дальнейшая работа для улучшения ее полезности при оценке вакцин-кандидатов и лекарственных препаратов.

19. Разработка противовирусных лекарственных средств. Комитет отметил значительные усилия, предпринимаемые как государственными учреждениями, так и частными компаниями для идентификации новых соединений, которые являются активными против *вируса натуральной оспы*. Российское учреждение внимательно изучило 2432 соединения на ингибиторную активность и выявило шесть новых соединений для дальнейших испытаний на животных моделях. Подобные исследования с целью определения новых лекарственных средств ведутся как в Соединенном Королевстве Великобритании и Северной Ирландии (с испытанием наиболее перспективных соединений, которое будет проведено в американском учреждении), так и в Соединенных Штатах Америки, где было выявлено в общей сложности 40 перспективных соединений с обещающими свойствами.

20. В нынешней модели, основанной на приматах, цидофовир защищал обезьян, если вводился за 24 часа до инфицирования, но не обеспечивал защиту, если вводился через 12 часов после инфекции. Эти результаты можно объяснить сложностью задачи по индуцированию болезни. Данные экспериментов с *Cowpox virus* и *Vaccinia virus* на мышах свидетельствует о том, что эффективность цидофовира в значительной степени зависит от дозы провокационного вируса и что постинфекционная защита может быть обеспечена только в том случае, если для инфицирования были применены низкие дозы.

21. Комитет отметил, что цидофовир не является идеальным лекарственным средством из-за его нефротоксичности и из-за необходимости вводить его парентерально, и поэтому одобрил исследования трех пролекарственных дериватов цидофовира, которые можно вводить орально. Результаты против инфекции *Cowpox virus* у мышей продемонстрировали более низкую токсичность и более высокие концентрации плазмы для этих лекарств, чем цидофовир. Однако испытания на приматной модели оспы не будут производиться в течение следующих шести месяцев.

22. Разработка вакцин. Комитет обсудил четыре программы разработки вакцин. Мероприятия в Соединенном Королевстве, направленные на разработку второго поколения производных вакцин, по-прежнему находятся на стадии выявления подходящих защитных антигенов. Как в Соединенном Королевстве, так и в Соединенных Штатах Америки проведена работа по оценке измененного *Vaccinia virus* в качестве кандидата живой аттенуированной вакцины. Исследования в Соединенных Штатах Америки по разработке ДНК вакцин с помощью кодирования последовательностей для четырех антигенов находятся на ранней стадии.

23. Общая дискуссия. В отношении пассивной иммунотерапии Комитет отметил отсутствие научно обоснованных данных в поддержку полезного использования иммуноглобулина коровьей оспы. Однако ведется определенная работа по созданию

трансгенных животных, способных производить гуманизированный иммуноглобулин коровьей оспы.

24. При обсуждении вопросов безопасности Комитет рассмотрел возможное распределение коротких фрагментов ДНК *вируса натуральной оспы* для использования при проверке диагностических процедур ПЦР, сайтнаправленного мутагенеза ДНК *Vaccinia virus*, для того чтобы сделать ее более сходной с сайтнаправленным мутагенезом *Variola virus*, вставки чужих генов в *Variola virus* и одновременного использования *Variola virus* и других ортопоксвирусов. Он отметил, что хотя существующие руководящие принципы препятствуют проведению такой работы, возможно в связи со значительным технологическим прогрессом, который произошел после выпуска этих принципов, в них необходимо внести изменения. В то же время Комитет признал, что ему не хватает конкретного опыта для рассмотрения этих важных вопросов, и рекомендовал в неотложном порядке созвать техническую группу, имеющую соответствующий опыт, для рассмотрения этих вопросов и составления руководящих принципов для ВОЗ.

25. В целом Комитет был вдохновлен значительным прогрессом, достигнутым в исследованиях с использованием *Variola virus*, и рекомендовал продолжить эту работу. Лабораториям, проводящим утвержденные исследования, было рекомендовано составлять письменные ежегодные доклады о ходе работы, которые затем можно распространить в более широких научных кругах. Комитет далее рекомендовал, чтобы все исследования публиковались в открытой для всех коллег литературе.

26. Доклад, представляющий рекомендации Комитета¹, был принят к сведению Исполнительным комитетом на его Сто одиннадцатой сессии в январе 2003 года².

ДЕЙСТВИЯ АССАМБЛЕИ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ

27. Ассамблее здравоохранения предлагается принять к сведению настоящий доклад.

= = =

¹ Документ EB111/5.

² См. документ EB/111/2003/REC/2, протокол пятого заседания.