

УДК 578.821.5:575.86

40 лет без оспы

Г. А. Щелкунова¹, С. Н. Щелкунов^{1,2*}

¹Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, 630559, Кольцово, Новосибирская обл.

²Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, 630090, Новосибирск, ул. Пирогова, 2

*E-mail: snshchel@rambler.ru; snshchel@vector.nsc.ru

В октябре 1977 г. был зафиксирован последний случай заражения человека натуральной оспой в природе. К этому событию мировое сообщество шло почти 20 лет после принятия Всемирной организацией здравоохранения программы глобальной ликвидации этого особо опасного инфекционного заболевания. Вакцинация против оспы была отменена, и за прошедшие 40 лет человечество в своем большинстве утратило иммунитет не только к оспе, но и другим зоонозным ортопоксвирусным инфекциям. Это, в частности, привело к тому, что в последние годы на разных континентах все чаще стали регистрироваться вспышки ортопоксвирусных инфекций среди людей. Существует угроза возврата оспы в результате эволюционных преобразований зоонозных ортопоксвирусов. Для предотвращения распространения таких инфекций разрабатываются современные методы диагностики, профилактики и терапии оспы и ортопоксвирусных инфекций.

Оспа (старослав. оспа – от осыпать, сыпь), или оспа натуральная (лат. *Variola vera* – пестрый, пятнистый; франц. – la petite variole; англ. – smallpox), получила свое современное название в XVI веке, хотя это заболевание было известно с давних пор и унесло больше человеческих жизней, чем многие другие инфекции или многочисленные войны. Только в XX столетии за неполные 80 лет, когда осуществлялась массовая вакцинация и велась интенсивная противоэпидемическая борьба с натуральной оспой, от нее погибло не менее 300 млн человек [1].

В 1796 г. английским медиком Эдвардом Дженнером был предложен метод защиты людей от натуральной оспы прививанием им инфекционного материала от коров с оспоподобным заболеванием. Этот метод получил название вак-

цинация (от лат. *vacca* – корова). Данное событие произошло практически за 100 лет до открытия царства вирусов [1–3].

Введя в 1919 г. обязательное оспопрививание в России (а затем в СССР), огромной стране, в которой в различных географических условиях – от высокогорных районов и пустынь до северной тундры и глухих таежных областей, проживают десятки народностей, отличающихся по традициям, обрядам и верованиям, удалось к 1936 г. ликвидировать заболеваемость натуральной оспой [3].

В первой половине XX века это опасное инфекционное заболевание было ликвидировано во многих развитых странах. Однако в 50-х годах этого же столетия вспышки натуральной оспы ежегодно регистрировались в 50–80 странах. Кроме того, существование эндемичных очагов инфек-

ции в Азии, Африке и Южной Америке представляло потенциальную угрозу завоза оспы в страны, свободные от этого заболевания.

На основе анализа огромного научного и организационного опыта по ликвидации оспы у себя в стране В.М. Жданов от имени делегации СССР в 1958 г. на 9-й сессии Всемирной ассамблеи здравоохранения (ВАЗ) выступил с предложением инициировать программу ликвидации оспы во всемирном масштабе, и 12 июня 1958 г. на 7-м пленарном заседании ВАЗ была принята резолюция, предусматривающая повсеместную ликвидацию оспы [1, 2].

После этого решения под эгидой Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) началась беспрецедентная международная программа глобальной ликвидации оспы. Советский Союз стал

не только инициатором программы ликвидации оспы, но и оказал широкую поддержку в последующие годы на всех этапах развития этой программы. Уже в 1958 г. Советское правительство передало ВОЗ 25 млн доз сухой оспенной вакцины, которая была направлена в разные страны. В 1960 г. в Московском научно-исследовательском институте вирусных препаратов (НИИ ВП) была организована лаборатория для крупномасштабного производства вакцины, отвечающей требованиям ВОЗ. Эта лаборатория стала также центром, где специалисты разных стран осваивали технику производства оспенной вакцины. В целом, за 20 лет осуществления международной программы ликвидации оспы свыше 1.5 млрд доз оспенной вакцины, произведенной в нашей стране, использовали для вакцинации населения в 45 странах, что сделало вклад СССР в программу глобальной ликвидации оспы одним из ведущих [2].

Важную роль в проведении работ по глобальной ликвидации оспы сыграла лаборатория профилактики оспы НИИ ВП, на базе которой был создан Международный справочный центр ВОЗ по оспе. Многочисленные отечественные специалисты проходили подготовку в этой лаборатории перед выездом в эндемичные по оспе страны, а также получали необходимые консультации при практической работе.

Объединенные усилия мирового сообщества по противозидемическому контролю и массовой противооспенной вакцинации в рамках принятой ВОЗ в 1966 г. «Интенсифицированной программы ликвидации оспы» привели к тому, что в октябре 1977 г. в Сомали был зафиксирован последний природный случай оспы. На основании заключения Глобальной комиссии по удосто-

верению ликвидации оспы 8 мая 1980 г. на 33-й сессии ВАЗ было торжественно провозглашено, что мир и все народы Земли одержали победу над натуральной оспой. Это первая и пока единственная победа мирового сообщества над особо опасным инфекционным заболеванием человека [1–3].

ГЕНОМНЫЙ ПРОЕКТ

Вслед за ликвидацией оспы с целью предотвращения ее случайного распространения из лабораторий, сохраняющих вирус натуральной оспы (ВНО), были предприняты мероприятия по сокращению числа таких лабораторий. Уже в 1981 г. осталось четыре (США, СССР, Южная Африка, Англия), а в 1984 г. – две лаборатории, получившие статус Сотрудничающих центров ВОЗ по оспе и родственным инфекциям: НИИ ВП (Москва, СССР) и Центр по контролю заболеваемости – CDC (Атланта, США) [1].

Существование даже двух строго контролируемых ВОЗ хранилищ жизнеспособных штаммов ВНО рассматривалось как источник возможной биологической опасности. Поэтому на четвертом заседании Специального комитета ВОЗ по ортопоксвирусным инфекциям в Женеве в 1986 г. было принято решение о необходимости уничтожения коллекций штаммов ВНО и их геномных ДНК. Учитывая планируемое уничтожение в будущем коллекций ВНО, необходимо было осуществить надежную консервацию в биологически безопасной форме генетического материала разных изолятов ВНО, что представлялось чрезвычайно важным для будущих исследований. С целью сохранения информации об этом уникальном вирусе Комитет советников ВОЗ считал необходимым предварительно осуществить секвенирование генома ВНО [4].

В связи с этим в октябре 1990 г. заместителем министра здравоохранения СССР А.И. Кондрусевым и заместителем министра медицинской промышленности СССР Ю.Т. Калининным была утверждена «Национальная программа по консервации генетического материала отечественной коллекции штаммов вируса натуральной оспы». Научными руководителями данной программы были генеральный директор НПО «Вектор» Л.С. Сандахчиев и директор НИИ ВП О.Г. Анджапаридзе, ответственными исполнителями – С.Н. Щелкунов и С.С. Маренникова.

В декабре 1990 г. на 5-м заседании Специального комитета ВОЗ по ортопоксвирусным инфекциям в Женеве были одобрены национальные программы исследований генома ВНО, предложенные Россией (НПО «Вектор», Кольцово, Новосибирская область и НИИ ВП, Москва) и США (CDC, Атланта, Джорджия и Институт геномных исследований, Гейтерсберг, Мэриленд). В мае 1991 г. комиссия ВОЗ инспектировала в НПО «Вектор» лабораторию, возглавляемую С.Н. Щелкуновым, и дала разрешение на работы по клонированию фрагментов ДНК ВНО и их секвенированию.

ВНО имеет видовое название *Variola virus* (VARV). Обычно выделяют два подвида: *V. major*, обуславливающий заболевание с уровнем летальности от 5 до 40%, и *V. minor*, приводящий к смертельному исходу менее чем в 2% случаев [1]. Данный вирус входит в состав рода *Orthopoxvirus* семейства *Poxviridae*. Этот род включает также зоонозные виды *Monkeypox virus* (MPXV, вирус оспы обезьян – ВОО), *Cowpox virus* (CPXV, вирус оспы коров – ВОК), *Vaccinia virus* (VACV, вирус осповакцины – ВОВ), *Buffalopox virus* (BPXV, вирус оспы буйволов – ВОБ; подвид

VACV) и *Camelpox virus* (CMLV, вирус оспы верблюдов – VOVb), способные инфицировать человека [4–12]. Ортопоксвирусы антигенно и иммунологически близки друг другу и обеспечивают перекрестную иммунную защиту при инфицировании человека и животных [1].

К середине 1992 г. российские ученые первыми завершили секвенирование генома высоковирулентного штамма ВНО *major*, выделенного в Индии в 1967 г. во время вспышки инфекции с уровнем летальности 31%, выполнили компьютерный анализ полученных данных [13–16] и сравнение с недавно опубликованной нуклеотидной последовательностью генома вируса осповакцины (ВОВ) [17, 18]. Результаты этого исследования впервые были представлены в виде доклада, которым открылась 9-я Международная конференция по поксвирусам и иридовirusам [19]. Год спустя американские исследователи завершили секвенирование и анализ полного генома другого высоковирулентного штамма ВНО *major* Bangladesh-1975, выделенного во время вспышки оспы с уровнем летальности 18.5% [20]. Это позво-

лило подробно сравнить геномы этих штаммов и выявить их высокий консерватизм [21, 22].

На 6-м заседании Специального комитета ВОЗ по ортопоксвирусным инфекциям (сентябрь 1994 г., Женева, Швейцария) было решено запасы ДНК вируса натуральной оспы хранить в двух международных репозиториях: в НПО «Вектор», получившем к тому времени статус Государственного научного центра вирусологии и биотехнологии (ГНЦ ВБ «Вектор», Россия), и в CDC (США).

В совместном исследовании сотрудники ГНЦ ВБ «Вектор» и CDC дополнительно выполнили секвенирование и анализ полного генома низковирулентного штамма ВНО *minor* Garcia-1966 [23] (таблица).

Учитывая потенциальную опасность работы с живым ВНО в г. Москве, на основании совместного приказа Минздравмедпрома, Миннауки, Госкомсанэпиднадзора России и РАМН в конце сентября 1994 г. состоялась передача коллекции штаммов ВНО из НИИ ВП в ГНЦ ВБ «Вектор».

После инспекционной проверки в 1995 г. комиссией ВОЗ лаборатории наивысшей физической защиты, предназначенной для ра-

боты с ВНО, ВОЗ официально зарегистрировала в июне 1997 г. создание на базе ГНЦ ВБ «Вектор» Сотрудничающего центра ВОЗ по диагностике ортопоксвирусных инфекций и музея штаммов и ДНК вируса оспы. Право на хранение коллекции штаммов ВНО и геномной ДНК этого вируса на базе ГНЦ ВБ «Вектор» было признано резолюцией ВАЗ 49.10 и подтверждено последующими резолюциями ВАЗ 52.10, 55.15 и 60.1.

В 1999 г. был организован Консультативный комитет ВОЗ по исследованиям вируса натуральной оспы, который стал контролировать работы с ВНО и ежегодно проводить совещания всех специалистов, вовлеченных в изучение ВНО и разработку методов диагностики, профилактики и терапии оспы и других ортопоксвирусных инфекций человека.

Для изучения эволюционных взаимосвязей разных видов ортопоксвирусов важно было сравнить их геномы. Ученые ГНЦ ВБ «Вектор» первыми расшифровали геномные ДНК вирусов оспы коров (ВОК) [24] и оспы обезьян (ВОО) [25, 26], выделенных от больных людей (табли-

Первые секвенированные геномы ортопоксвирусов

| Вид | Штамм | Размер генома, п.н. | Число потенциальных генов | Организация, выполнившая секвенирование | Год секвенирования |
|-------------------------------------|-----------------|---------------------|---------------------------|---|--------------------|
| Вирус осповакцины | Copenhagen | 191636 | 198 | Virogenetics, США | 1990 |
| Вирус натуральной оспы <i>major</i> | India-1967 | 185578 | 199 | ГНЦ ВБ «Вектор», Россия | 1992 |
| Вирус натуральной оспы <i>major</i> | Bangladesh-1975 | 186103 | 196 | CDC, США | 1993 |
| Вирус натуральной оспы <i>minor</i> | Garcia-1966 | 186986 | 206 | ГНЦ ВБ «Вектор», Россия; CDC, США | 1995 |
| Вирус оспы коров | GRI-90 | 223666 | 212 | ГНЦ ВБ «Вектор», Россия | 1997 |
| Вирус осповакцины | Ankara | 177923 | 157 | Biomedical Research Center, Австрия | 1998 |
| Вирус оспы обезьян | Zaire-96-I-16 | 196858 | 191 | ГНЦ ВБ «Вектор», Россия | 2001 |
| Вирус оспы коров | Brighton Red | 224499 | 218 | Duke University Medical Center, США | 2002 |
| Вирус осповакцины | WR | 194711 | 206 | CDC, США | 2003 |

ца). Анализ полных геномов ВНО, ВОО, ВОК, ВОВ и ВОВ6 позволил обнаружить, что ДНК ВОК не только самая протяженная среди изученных ортопоксвирусов, но и содержит все генетические элементы, характерные для других видов ортопоксвирусов [24, 27–31]. ВНО, ВОО и ВОВ могут рассматриваться как варианты ВОК со специфичными для каждого вида делециями, перестройками и точечными мутациями. Поэтому мы сделали вывод, что ВОК-подобный вирус был прародителем всех современных видов ортопоксвирусов, патогенных для человека [24, 26, 32].

Накопленные данные позволили впервые провести сравнительный анализ стратегии геномов всех видов ортопоксвирусов, патогенных для человека, выполнить первые филогенетические исследования данной группы вирусов и выявить их эволюционные взаимосвязи. Однако в этих работах еще не было возможности установить временные параметры молекулярной эволюции ортопоксвирусов и, в частности, ВНО [26, 33–36].

Ситуация с датированием молекулярной эволюции ВНО существенно изменилась после того, как для обнаружения генетических различий между штаммами ВНО сотрудниками ГНЦ ВБ «Вектор» и CDC (США) был разработан метод изучения полных геномов ВНО, включающий проведение длинной полимеразной цепной реакции (ДПЦР) перекрывающихся сегментов вирусной ДНК (размером 10 т.п.н. и более) с последующим гидролизом полученных ампликонов мелкоцепящими эндонуклеазами рестрикции, электрофорезом и компьютерным анализом полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (ПДРФ). Этот относительно простой подход (ДПЦР-ПДРФ-анализ), приближающийся

по информативности к секвенированию ДНК (анализ положения более 300 участков гидролиза эндонуклеазами рестрикции на вирусной ДНК), позволил впервые выявить детальные различия между геномами 63 штаммов ВНО, выделенных в разных географических районах и в разные годы, из российской и американской коллекций. На основе филогенетического анализа данных полиморфизма длин рестрикционных фрагментов вирусных ДНК нами впервые было обнаружено, что западноафриканские и южноамериканские штаммы ВНО формируют отдельный подтип (кладу), имеющих существенные отличия в организации генома от всех других изученных географических вариантов ВНО [37]. При этом принципиальным было то, что внутри выявленного подтипа западноафриканские и южноамериканские штаммы ВНО образуют две четко различающиеся филогенетические подгруппы (субклады), что свидетельствует об их независимой эволюции на протяжении некоторого времени. Результаты этого анализа и архивные данные о неоднократных заносах ВНО из Западной Африки в Южную Америку в XVI–XVIII веках при перевозке рабов позволили нам впервые количественно оценить скорость эволюции поксвирусов [38].

Секвенирование полных геномов большого набора штаммов ВНО, выделенных в разные годы и в различных географических регионах [39], а также протяженных сегментов генома дополнительных штаммов ВНО [40], позволило уточнить датирование ключевых событий в эволюции ВНО [41, 42].

ВОЗМОЖНЫЙ ВОЗВРАТ ОСПЫ

Учитывая, что вакцинация против оспы вызывала в ряде случаев тяжелые побочные реакции, ВОЗ рекомендовала после 1980 г.

прекратить ее во всех странах. Итогом этого решения стала утрата человечеством иммунитета не только против оспы, но и против других зоонозных ортопоксвирусных инфекций. Участвовавшие в последние годы случаи инфицирования людей зоонозными ортопоксвирусами заставляют с новой силой вернуться к рассмотрению вопроса о возможном возврате оспы в результате естественной эволюции этих вирусов [32, 43].

Важным свойством ВНО является его способность инфицировать только человека и отсутствие природного резервуара (чувствительное животное) данного вируса. При этом инфицирование человека ВНО может в большом числе случаев (до 40% и более) приводить к смертельному исходу [1–4].

ВОО вызывает у человека заболевание, по клиническим признакам напоминающее оспу, и в ряде случаев (до 10 %) завершается летальным исходом. Основное отличие оспы обезьян у человека от натуральной оспы – низкая эффективность передачи ВОО от человека к человеку, что до сих пор предотвращало переход локальных вспышек данного заболевания в эпидемии [44]. Однако исследования последних лет указывают на увеличивающуюся эффективность распространения ВОО в человеческой популяции [45, 46], что должно вызвать настоятельную необходимость медицинских служб Центральной и Западной Африки, а также ВОЗ.

В условиях длительного отсутствия вакцинации населения и значительно более частого инфицирования людей ВОО может приобрести способность к высокой частоте передачи от человека к человеку, характерные для ВНО. Если это произойдет, то человечество встанет перед гораздо более сложной проблемой, чем искоренение натуральной оспы. В первую очередь, это обу-

словлено тем, что ВОО, в отличие ВНО, имеет природный резервуар в виде многочисленных африканских грызунов [32].

Другие виды зоонозных ортопоксвирусов обычно вызывают редкие инфекции человека (небольшие вспышки), завершающиеся в большинстве случаев доброкачественно [6, 9, 12]. Однако известно, что инфицирование ВОК людей с иммунодефицитными состояниями может приводить к развитию генерализованной инфекции, напоминающей оспу и завершающейся летальным исходом [47, 48].

Как уже указывалось, сравнительный анализ организации геномов ВНО и зоонозных ортопоксвирусов, патогенных для человека, показал, что ВОК имеет наибольший по размеру геном и содержит все гены, характерные для других видов ортопоксвирусов. У других ортопоксвирусов часть генов нарушена или делетирована, они имеют видоспецифичные отличия между собой по набору сохранившихся генов. Эти данные поддерживают концепцию редукативной эволюции ортопоксвирусов, согласно которой утрата генов играет важную роль в эволюционной адаптации вируса-предшественника к определенному хозяину и в возникновении новых вирусных видов [49, 50]. Самый патогенный для человека ВНО имеет наименьший геном из всех ортопоксвирусов. Это указывает на потенциальную возможность возникновения ВНО-подобного вируса из современных зоонозных ортопоксвирусов с более протяженным геномом в результате естественной эволюции [32, 42].

На основе анализа доступных архивных данных об эпидемиях оспы, об истории древних цивилизаций и новейших данных об эволюционных взаимосвязях ортопоксвирусов сформулирована гипотеза о том, что оспа могла воз-

никать неоднократно в результате эволюционных изменений зоонозного вируса-прародителя и исчезать вследствие недостаточной численности населения разрозненных древних цивилизаций [43]. Лишь исторически последняя пандемия оспы продолжалась длительное время и была ликвидирована в XX веке при объединении усилий медиков и ученых многих стран под эгидой ВОЗ.

Таким образом, принципиальных запретов на возможность повторного появления в будущем оспы или схожего заболевания человека в процессе естественной эволюции существующих в настоящее время зоонозных ортопоксвирусов нет. Поэтому необходимо разрабатывать и широко внедрять современные методы эффективной и быстрой видоспецифичной диагностики всех видов ортопоксвирусов, патогенных для человека, включая ВНО. Также важно разрабатывать новые безопасные методы профилактики и терапии ортопоксвирусных инфекций человека.

ВИДОСПЕЦИФИЧНАЯ ДНК-ДИАГНОСТИКА ОРТОПОКСВИРУСОВ

Ортопоксвирусные инфекции имеют характерные внешние проявления – кожные поражения, однако опыт показывает, что клиническая диагностика этих заболеваний зачастую оказывается ошибочной [3, 4].

Разработка метода полимеразной цепной реакции (ПЦР) привела к созданию современных методов детекции и идентификации следовых количеств микроорганизмов в анализируемых образцах с высокой специфичностью и за короткое время [51]. При этом, что очень важно, не требуется осуществлять манипуляции с живыми особо опасными инфекционными агентами, к которым относятся ВНО и ВОО.

В случае ортопоксвирусов, патогенных для человека, наибольший интерес представляют тест-системы, обеспечивающие возможность родоспецифичной идентификации ДНК анализируемого вируса с одновременной ее видоспецифичной дифференциацией. Сотрудники ГНЦ ВВ «Вектор» первыми разработали такие методы на основе классической мультиплексной ПЦР [52, 53], а также мультиплексной ПЦР в режиме реального времени [54–58].

На ПЦР основан и анализ на олигонуклеотидных микрочипах, в котором полученные ДНК-ампликоны идентифицируют гибридизацией со специфичными олигонуклеотидами, фиксированными на подложке в определенном порядке. Препараты ДНК, предназначенные для гибридизации на микрочипе, флуоресцентно метят. После гибридизации и отмывки микрочип анализируют с помощью лазерного сканера и данные флуоресценции каждой ячейки микроматрицы подвергают компьютерной обработке, используя специальное программное обеспечение. Этот метод, так же как классическая ПЦР, позволяет обнаружить следовые количества исследуемого материала в образце. Одно из важных преимуществ олигонуклеотидных микрочипов – возможность анализировать одновременно множество генетических локусов, что значительно повышает надежность метода [4].

Для видоспецифичной детекции ортопоксвирусов разработаны различные варианты диагностических олигонуклеотидных микрочипов [59–62].

Бурное развитие технологий секвенирования позволяет в короткие сроки получать информацию о полной нуклеотидной последовательности генома объекта исследования. Все чаще при выявлении необычных ортопокс-

вирусных инфекций проводят полногеномное секвенирование выделенных вирусных изолятов [63, 64]. Эти исследования свидетельствуют о необходимости дальнейшего совершенствования лабораторной диагностики ортопоксвирусных инфекций и эпидемиологического надзора. Циркулирующие в природе патогенные для человека зоонозные ортопоксвирусы требуют детального изучения и мониторинга возникновения новых видов, потенциально способных на фоне прекращения плановой вакцинации населения против оспы привести к возникновению высокопатогенных для человека вариантов ортопоксвирусов.

СОВРЕМЕННЫЕ ПРОТИВООСПЕННЫЕ ВАКЦИНЫ

Живая противооспенная вакцина первого поколения представляла собой препарат ВОВ, полученный размножением вируса на коже телят или других животных. В современных условиях вакцинные штаммы ВОВ продуцируют на культурах клеток млекопитающих, и такие препараты относят к противооспенным вакцинам второго поколения [65]. Несмотря на то что производство вакцин на культуре клеток происходит в соответствии с современными стандартами, противооспенные вакцины второго поколения, как и вакцины первого поколения, могут вызывать серьезные побочные реакции и поэтому имеют ограниченное применение [66].

Аттенуированные противооспенные вакцины третьего поколения получают в процессе множественных пассажей определенного штамма ВОВ в культуре клеток гетерологического хозяина. Например, самая изученная противооспенная вакцина третьего поколения MVA получена в результате большого числа пассажей штамма Ankara ВОВ на культуре куриных фибро-

бластов. В геноме штамма MVA возникли множественные мутации и протяженные делеции, отличающие его от генома исходного штамма ВОВ. MVA не способен реплицироваться в большинстве клеток млекопитающих, включая клетки человека [67].

К настоящему времени вакцина на основе штамма MVA (Imvanex/Imvamune) прошла многочисленные клинические испытания, включая пациентов с атопическим дерматитом и ВИЧ-инфицированных [68–70]. Показано, что эта вакцина индуцирует профиль антител, аналогичный профилю, индуцируемому классической вакциной первого поколения, и защищает различных лабораторных животных от зоонозных ортопоксвирусов [71–73]. Imvanex/Imvamune лицензирована в странах Европы, Канаде и США. Прежде всего эта вакцина предназначена для первичной вакцинации пациентов с противопоказаниями к противооспенным вакцинам первого и второго поколений.

Противооспенная вакцина третьего поколения LC16m8, лицензированная в Японии, получена на основе ВОВ штамма Lister путем множественных пассажей на первичной культуре клеток почки кролика при пониженной температуре (30°C). Клинические исследования показали значительное снижение побочных эффектов в сравнении с традиционной вакциной на основе штамма Lister. Аттенуация вакцинного штамма объясняется, главным образом, мутацией (делеция одного нуклеотида) в гене B5R, который кодирует белок внеклеточного вириона [74, 75]. Протективная эффективность LC16m8 в экспериментах на животных моделях сравнима с эффективностью родительского штамма Lister [76, 77].

Новый подход к получению аттенуированных противо-

оспенных вакцин четвертого поколения состоит во введении методами генетической инженерии направленных делеций/инсерций, нарушающих гены, контролирующие защитные реакции организма против вирусной инфекции, круг чувствительных хозяев вируса и др. Наиболее подробно изученный вариант такого ВОВ представляет собой штамм NYVAC, в геноме которого делетирован блок из 12 генов и дополнительно нарушено шесть индивидуальных генов. Штамм NYVAC индуцирует у человека значительно более низкий противооспенный иммунитет, чем классическая вакцина на основе штамма Lister или Dryvax, включая невозможность индуцировать A27-специфичные антитела, необходимые для эффективной нейтрализации одной из инфекционных форм ВОВ – внутриклеточного зрелого вируса [78, 79].

В России последовательным введением направленных делеций/вставок в пять индивидуальных генов штамма LIVP получен высокоаттенуированный вариант ВОВ [80]. Дополнительное введение в геном этого вируса направленной делеции по гену A35R позволило получить высокоиммуногенный аттенуированный штамм VACdelta6 [81], который проходит в настоящее время доклинические исследования в качестве вероятной противооспенной вакцины четвертого поколения. Эта вакцина может использоваться и в комбинации с противооспенной ДНК-вакциной [82].

ПРОТИВООСПЕННЫЕ ХИМИОПРЕПАРАТЫ

Важное значение для лечения ортопоксвирусных инфекций человека могут представлять химиотерапевтические препараты, поиск которых в последние 20 лет увенчался относительным успехом. Поскольку адекватная животная модель натуральной оспы отсут-

ствуется, тестирование потенциальных противооспенных средств приходится выполнять на суррогатных животных моделях [83]. Первоначальный скрининг ингибиторов размножения ортопоксвирусов проводили на культурах клеток, затем соединения, показавшие *in vitro* высокую противовирусную активность, изучали на животных моделях, прежде всего таких, как интраназальное или аэрозольное инфицирование мышей ВОК или обезьян ВОО [84, 85]. В последние годы активно использовали также кроликов, инфицированных вирусом оспы кроликов, и луговых собак или степных сурков, инфицированных вирусом оспы обезьян [86–88]. При этом ни одна из суррогатных животных моделей ортопоксвирусной инфекции не соответствует точно оспенной инфекции у человека. Поэтому предполагаемые противооспенные препараты изучают параллельно на разных животных моделях.

Первым интенсивно изучаемым в качестве антиортопоксвирусного соединения стал нуклеотидный аналог цидофовир (Cidofovir, производимый под названием Vistide), разрешенный для клинического применения при цитомегаловирусном ретините и являющийся ингибитором вирусной ДНК-полимеразы [83]. На разных суррогатных животных моделях цидофовир зарекомендовал себя как эффективный терапевтический препарат против ортопоксвирусных инфекций. Однако его существенным недостатком была плохая водорастворимость и необходимость внутривенного введения. Поэтому был синтезирован липидный конъюгат цидофовира, который получил название СМХ001 (Brincidofovir) [86, 89]. Этот препарат широкого спектра антивирусного действия можно применять в таблетированной форме и он также обладает вы-

раженной антиортопоксвирусной активностью.

Наибольший интерес в качестве противооспенного препарата представляет соединение ST-246, блокирующее последнюю стадию сборки внутриклеточных покрытых оболочкой вирионов и предотвращающее выход вируса из инфицированной клетки [83, 90]. ST-246 был идентифицирован в результате скрининга на противовирусную активность библиотеки препаратов, состоящей из более 350 тысяч уникальных химических соединений. ST-246 (Tecovirimat) показал низкую токсичность и высокую противовирусную эффективность на мышцах, инфицированных вирусами экстремелии (оспы мышей), ВОВ и ВОК, кроликов – вирусом оспы кроликов, луговых собак – ВОО, обезьян – ВОО и ВНО [90–92]. В настоящее время ST-246 проходит клинические испытания. НИОХ-14 – аналог ST-246, также показал высокую активность на различных животных моделях ортопоксвирусных инфекций [93].

Поиск новых химиотерапевтических антиортопоксвирусных препаратов с другими молекулярными мишенями продолжается [90, 94].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ организации геномов ортопоксвирусов, патогенных для человека, и закономерности их эволюции указывают на принципиальную возможность повторного возникновения оспы или схожего заболевания человека в будущем, обусловленного естественной эволюцией существующих зоонозных ортопоксвирусов. Прекращение противооспенной вакцинации и утрата человечеством в связи с этим коллективного иммунитета не только против оспы, но и других ортопоксвирусных инфекций создают условия для распространения зоонозных

ортопоксвирусов среди людей, а это может способствовать селекции высокопатогенных для человека и эпидемически опасных вирусных вариантов. Однако современная ситуация не выглядит фатальной и радикально отличается от событий в далеком прошлом, когда человек не принимал участия в контроле инфекций. В настоящее время большинство вспышек ортопоксвирусных инфекций домашних животных и человека регистрируются и изучаются, а в процессе программы глобальной ликвидации оспы под эгидой ВОЗ отработана международная система сбора клинических образцов и идентификации инфекционных агентов, разработаны противоэпидемические мероприятия и методы массовой вакцинации людей [1].

В последние годы усилия ВОЗ направлены на разработку современных методов экспресс-идентификации ВНО, создание безопасных противооспенных вакцин новых поколений и химиопрепаратов, направленных против ВНО и других ортопоксвирусов [94].

Изученные вакцины и химиопрепараты не имеют выраженной видоспецифичности в отношении ортопоксвирусов, патогенных для человека. Поэтому они могут быть применены при вспышках, обусловленных любым видом ортопоксвирусов. Диагностические методы, учитывая сказанное выше, необходимо ориентировать на быструю идентификацию не только ВНО, но и ВОО, ВОК, ВОВ и ВОВб [32]. Принимая во внимание возросшее в последние годы число вспышек ортопоксвирусных инфекций животных и людей и их потенциальную опасность, важно обеспечить постоянный мониторинг этих инфекций во всех частях света, что позволит предотвратить развитие небольших вспышек в распространенные эпидемии и тем

самым уменьшит риск возникновения высокопатогенного для человека ортопоксвируса.

Феноменальные успехи синтетической биологии позволили осуществить синтез *de novo* пол-

ного генома вируса оспы лошадей и получить живой вирус [95]. Это указывает на возможность воссоздания в лаборатории любого ортопоксвируса, включая ВНО. Поэтому разработка и повсемест-

ное внедрение в практику здравоохранения современных методов диагностики, профилактики и терапии ортопоксвирусных инфекций представляют жизненно важную задачу. ●

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Fenner F., Henderson D.A., Arita I., Jezek Z., Ladnyi I.D. Smallpox and Its Eradication. Geneva: World Health Organization, 1988. 1460 p.
- Ладный И.Д. Ликвидация оспы и предупреждение ее возврата. М.: Медицина, 1985. 224 с.
- Маренникова С.С., Щелкунов С.Н. Патогенные для человека ортопоксвирусы. М.: КМК Scientific Press Ltd., 1998. 386 с.
- Shchelkunov S.N., Marennikova S.S., Moyer R.W. Orthopoxviruses Pathogenic for Humans. New York: Springer, 2005. 425 p.
- Di Giulio D.B., Eckburg P.B. // Lancet Infect. Dis. 2004. V. 4. P. 15–25.
- Essbauer S., Pfeffer M., Meyer H. // Vet. Microbiol. 2010. V. 140. P. 229–236.
- Bhanuprakash V., Venkatesan G., Balamurugan V., Hosamani M., Yogisharadhya R., Gandhale P., Reddy K.V., Damle A.S., Kher H.N., Chandl B.S., et al. // Zoonoses Publ. Hlth. 2010. V. 57. P. e149–155.
- Popova A.Y., Maksyutov R.A., Taranov O.S., Tregubchak T.V., Zaikovskaya A.V., Sergeev A.A., Vlashchenko I.V., Bodnev S.A., Ternovoi V.A., Alexandrova N.S., et al. // Epidemiol. Infect. 2017. V. 145. P. 755–759.
- Singh R.K., Balamurugan V., Bhanuprakash V., Venkatesan G., Hosamani M. // Indian J. Virol. 2012. V. 23. P. 1–11.
- Abraham J.S., Campos R.K., Trindade G.S., Guimaraes da Fonseca F., Ferreira P.C., Kroon E.G. // Emerg. Infect. Dis. 2015. V. 21. P. 695–698.
- Bera B.C., Shanmugasundaram K., Barua S., Venkatesan G., Virmani N., Riyesh T., Gulati B.R., Bhanuprakash V., Vaid R.K., Kakker N.K., et al. // Vet. Microbiol. 2011. V. 152. P. 29–38.
- Balamurugan V., Venkatesan G., Bhanuprakash V., Singh R.K. // Indian J. Virol. 2013. V. 24. P. 295–305.
- Щелкунов С.Н., Маренникова С.С., Тотменин А.В., Блинов В.М., Чижиков В.Е., Гуторов В.В., Сафронов П.Ф., Поздняков С.Г., Шелухина Э.М., Гашников П.В. и др. // Докл. АН СССР. 1991. Т. 321. С. 402–406.
- Щелкунов С.Н., Блинов В.М., Тотменин А.В., Маренникова С.С., Кольхалов А.А., Фролов И.В., Чижиков В.Е., Гуторов В.В., Гашников П.В., Беланов Е.Ф. и др. // Молекуляр. биология. 1992. Т. 26. С. 1099–1115.
- Щелкунов С.Н., Маренникова С.С., Блинов В.М., Ресенчук С.М., Тотменин А.В., Чижиков В.Е., Гуторов В.В., Сафронов П.Ф., Курманов Р.К., Сандахчиев Л.С. // Докл. РАН. 1993. Т. 328. С. 629–632.
- Shchelkunov S.N., Resenchuk S.M., Totmenin A.V., Blinov V.M., Marennikova S.S., Sandakhchiev L.S. // FEBS Lett. 1993. V. 327. P. 321–324.
- Goebel S.J., Johnson G.P., Perkus M.E., Davis S.W., Winslow J.P., Paoletti E. // Virology. 1990. V. 179. P. 247–266, 517–563.
- Shchelkunov S.N. // Virus Genes. 1995. V. 10. P. 53–71.
- Shchelkunov S.N., Marennikova S.S., Blinov V.M., Totmenin A.V., Chizhikov V.E., Netesov S.V., Andzhaparidze O.G., Sandakhchiev L.S. // In: Poxviruses and Iridoviruses. Abstr. of the 9th International Conference. Les Diablerets. Switzerland, 1992. P. 31.
- Massung R.F., Liu L.I., Qi J., Knight J.C., Yuran T.E., Kerlavage A.R., Parsons J.M., Venter J.C., Esposito J.J. // Virology. 1994. V. 201. P. 215–240.
- Shchelkunov S.N., Massung R.F., Esposito J.J. // Virus Res. 1995. V. 36. P. 107–118.
- Massung R.F., Loparev V.N., Knight J.C., Totmenin A.V., Chizhikov V.E., Parsons J.M., Safronov P.F., Gutorov V.V., Shchelkunov S.N., Esposito J.J. // Virology. 1996. V. 221. P. 291–300.
- Shchelkunov S.N., Totmenin A.V., Loparev V.N., Safronov P.F., Gutorov V.V., Chizhikov V.E., Knight J.C., Parsons J.M., Massung R.F., Esposito J.J. // Virology. 2000. V. 266. P. 361–386.
- Shchelkunov S.N., Safronov P.F., Totmenin A.V., Petrov N.A., Ryazankina O.I., Gutorov V.V., Kotwal G.J. // Virology. 1998. V. 243. P. 432–460.
- Shchelkunov S.N., Totmenin A.V., Babkin I.V., Safronov P.F., Ryazankina O.I., Petrov N.A., Gutorov V.V., Uvarova E.A., Mikheev M.V., Sisler J.R., et al. // FEBS Lett. 2001. V. 509. P. 66–70.
- Shchelkunov S.N., Totmenin A.V., Safronov P.F., Mikheev M.V., Gutorov V.V., Ryazankina O.I., Petrov N.A., Babkin I.V., Uvarova E.A., Sandakhchiev L.S., et al. // Virology. 2002. V. 297. P. 172–194.
- Shchelkunov S.N., Totmenin A.V. // Virus Genes. 1995. V. 9. P. 231–245.
- Uvarova E.A., Shchelkunov S.N. // Virus Res. 2001. V. 81. P. 39–45.
- Shchelkunov S., Totmenin A., Kolosova I. // Virus Genes. 2002. V. 24. P. 157–162.
- Shchelkunov S.N. // Virus Genes. 2010. V. 41. P. 309–318.
- Shchelkunov S.N. // Adv. Virol. 2012. V. 2012. Article ID 524743.
- Shchelkunov S.N. // PLoS Pathog. 2013. V. 9. P. e1003756.
- Upton C., Slack S., Hunter A.L., Ehlers A., Roper R.L. // J. Virol. 2003. V. 77. P. 7590–7600.
- McLysaght A., Baldi P.F., Gaut B.S. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2003. V. 100. P. 15655–15660.
- Gubser C., Hue S., Kellam P., Smith G.L. // J. Gen. Virol. 2004. V. 85. P. 105–117.
- Xing K., Deng R., Wang J., Feng J., Huang M., Wang X. // Intervirology. 2006. V. 49. P. 207–214.
- Бабкина И.Н., Бабкин И.В., Ли Ю., Ропп С., Клайн Р., Дэмон И., Эспозито Дж., Сандахчиев Л.С., Щелкунов С.Н. // Докл. РАН. 2004. Т. 398. С. 818–822.
- Babkin I.V., Shchelkunov S.N. // Mol. Biol. 2006. V. 40. P. 16–19.
- Esposito J.J., Sammons S.A., Frace A.M., Osborne J.D., Olsen-Rasmussen M., Zhang M., Govil D., Damon I.K., Kline R., Laker M., et al. // Science. 2006. V. 313. P. 807–812.
- Бабкин И.В., Непомнящих Т.С., Максютов Р.А., Гуторов В.В., Бабкина И.Н., Щелкунов С.Н. // Молекуляр. биология. 2008. Т. 42. С. 612–624.
- Babkin I.V., Shchelkunov S.N. // Russ. J. Genet. 2008. V. 44. P. 895–908.
- Shchelkunov S.N. // Arch. Virol. 2009. V. 154. P. 1865–1871.
- Shchelkunov S.N. // Vaccine. 2011. V. 29S. P. D49–53.

44. Breman J.G. // *Emerg. Infect.* 2000. V. 4. P. 45–67.
45. Rimoin A.W., Mulembakani P.M., Johnston S.C., Lloyd Smith J.O., Kisalu N.K., Kinkela T.L., Blumberg S., Thomassen H.A., Pike B.L., Fair J.N., et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2010. V. 107. P. 16262–16267.
46. Reynolds M.G., Carroll D.S., Karem K.L. // *Curr. Opin. Virol.* 2012. V. 2. P. 335–343.
47. Czerny C.P., Eis-Hubinger A.M., Mayr A., Schneeweis K.E., Pfeiff B. // *J. Vet. Med.* 1991. V. 1338. P. 421–431.
48. Fassbender P., Zange S., Ibrahim S., Zoeller G., Herbstreit F., Meyer H. // *Emerg. Infect. Dis.* 2016. V. 22. P. 553–555.
49. Hendrickson R.C., Wang C., Hatcher E.L., Lefkowitz E.J. // *Viruses.* 2010. V. 2. P. 1933–1967.
50. Coulson D., Upton C. // *Virus Genes.* 2011. V. 42. P. 171–177.
51. Mullis K.B., Faloona F. // *Meth. Enzymol.* 1987. V. 155. P. 335–350.
52. Гаврилова Е.В., Бабкин И.В., Шелкунов С.Н. // *Молекуляр. генетика, микробиол. вирусол.* 2003. № 1. С. 45–52.
53. Shchelkunov S.N., Gavrilova E.V., Babkin I.V. // *Mol. Cell. Probes.* 2005. V. 19. P. 1–8.
54. Olson V.A., Laue T., Laker M.T., Babkin I.V., Drosten C., Shchelkunov S.N., Niedrig M., Damon I.K., Meyer H. // *J. Clin. Microbiol.* 2004. V. 42. P. 1940–1946.
55. Костина Е.В., Гаврилова Е.В., Рябинин В.А., Шелкунов С.Н., Синяков А.Н. // *Вопр. вирусол.* 2009. Т. 54. С. 28–33.
56. Shchelkunov S.N., Shcherbakov D.N., Maksyutov R.A., Gavrilova E.V. // *J. Virol. Meth.* 2011. V. 175. P. 163–169.
57. Щербаков Д.Н., Гаврилова Е.В., Максютов Р.А., Шелкунов С.Н. // *Клинич. лаборатор. диагностика.* 2011. № 12. С. 39–42.
58. Maksyutov R.A., Gavrilova E.V., Shchelkunov S.N. // *J. Virol. Methods.* 2016. V. 236. P. 215–220.
59. Lapa S., Mikheev M., Shchelkunov S., Mikhailovich V., Sobolev A., Blinov V., Babkin I., Guskov A., Sokunova E., Zasedatelev A., et al. // *J. Clin. Microbiol.* 2002. V. 40. P. 753–757.
60. Михеев М.В., Лапа С.А., Шелкунов С.Н., Чикова А.К., Михайлович В.М., Соболев А.Ю., Бабкин И.В., Грядунов Д.А., Булавкина М.А., Гуськов А.А. и др. // *Вопр. вирусол.* 2003. Т. 48. С. 4–9.
61. Laassri M., Chizhikov V., Mikheev M., Shchelkunov S., Chumakov K. // *J. Virol. Methods.* 2003. V. 112. P. 67–78.
62. Ryabinin V.A., Shundrin L.A., Kostina E.B., Laassri M., Chizhikov V., Shchelkunov S.N., Chumakov K., Sinyakov A.N. // *J. Med. Virol.* 2006. V. 78. P. 1325–1340.
63. Mavian C., Lopez-Bueno A., Alcamí A. // *Genome Announc.* 2014. V. 2. P. e01086–13.
64. Vora N.M., Li Y., Geleishvili M., Emerson G.L., Khmaladze E., Maghlakelidze G., Navdarashvili A., Zakhashvili K., Kokh-reidze M., Endeladze M., et al. // *N. Engl. J. Med.* 2015. V. 372. P. 1223–1230.
65. Sanchez-Sampedro L., Perdiguero B., Mejias-Perez E., Garcia-Arriaza J., Di Pilato M., Esteban M. // *Viruses.* 2015. V. 7. P. 1726–1803.
66. Frey S.E., Newman F.K., Kennedy J.S., Ennis F., Abate G., Hoft D.F., Monath T.P. // *Vaccine.* 2009. V. 10. P. 1637–1644.
67. Meyer H., Sutter G., Mayr A. // *J. Gen. Virol.* 1991. V. 72. P. 1031–1038.
68. Sonnenburg F., Perona P., Darsow U., Ring J., von Krempelhuber A., Vollmar J., Roesch S., Baedeker N., Kollaritsch H., Chaplin P. // *Vaccine.* 2014. V. 32. P. 5696–5702.
69. Zitzmann-Roth E.M., von Sonnenburg F., de la Motte S., Arndtz-Wiedemann N., von Krempelhuber A., Uebler N., Vollmar J., Virgin G., Chaplin P. // *PLoS One.* 2015. V. 10. P. e0122653.
70. Greenberg R.N., Hay C.M., Stapleton J.T., Marbury T.C., Wagner E., Kreitmair E., Roesch S., von Krempelhuber A., Young P., Nichols R., et al. // *PLoS One.* 2016. V. 11. P. e0157335.
71. Earl P.L., Americo J.L., Wyatt L.S., Eller L.A., Whitbeck J.C., Cohen G.H., Eisenberg R.J., Hartmann C.J., Jackson D.L., Kulesh D.A., et al. // *Nature.* 2004. V. 428. P. 182–185.
72. Jones D.I., McGee C.E., Sample C.J., Sempowski G.D., Pickup D.J., Staats H.F. // *Clin. Vaccine Immunol.* 2016. V. 23. P. 648–651.
73. Volz A., Sutter G. // *Adv. Virus Res.* 2017. V. 97. P. 187–243.
74. Kidokoro M., Tashiro M., Shida H. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2005. V. 102. P. 4152–4157.
75. Eto A., Saito T., Yokote H., Kurane I., Kanatani Y. // *Vaccine.* 2015. V. 33. P. 6106–6111.
76. Empig C., Kenner J.R., Perret-Gentil M., Youree B.E., Bell E., Chen A., Gurwith M., Higgins K., Lock M., Rice A.D., et al. // *Vaccine.* 2006. V. 24. P. 3686–3694.
77. Yokote H., Shinmura Y., Kanehara T., Maruno S., Kuranaga M., Matsui H., Hashizume S. // *Vaccine.* 2015. V. 33. P. 6112–6119.
78. Tartaglia J., Perkus M.E., Taylor J., Norton E.K., Audonnet J.C., Cox W.I., Davis S.W., van der Hoeven J., Meignier B., Riviere M., et al. // *Virology.* 1992. V. 188. P. 217–232.
79. Midgley C.M., Putz M.M., Weber J.N., Smith G.L. // *J. Gen. Virol.* 2008. V. 89. P. 2992–2997.
80. Yakubitskiy S.N., Kolosova I.V., Maksyutov R.A., Shchelkunov S.N. // *Acta Naturae.* 2015. V. 7. P. 113–121.
81. Yakubitskiy S.N., Kolosova I.V., Maksyutov R.A., Shchelkunov S.N. // *Dokl. Biochem. Biophys.* 2016. V. 466. P. 35–38.
82. Maksyutov R.A., Yakubitskiy S.N., Kolosova I.V., Shchelkunov S.N. // *Acta Naturae.* 2017. V. 9. P. 88–93.
83. Smee D.F. // *Antivir. Chem. Chemother.* 2008. V. 19. P. 115–124.
84. Bray M., Martinez M., Smee D.F., Kefauer D., Thompson E., Huggins J.W. // *J. Infect. Dis.* 2000. V. 181. P. 10–19.
85. Zaucha G.M., Jahrling P.B., Geisbert T.W., Swearingen J.R., Hensley L. // *Lab. Invest.* 2001. V. 81. P. 1581–1600.
86. Rice A.D., Adams M.M., Wallace G., Burrage A.M., Lindsey S.F., Smith A.J., Swetnam D., Manning B.R., Gray S.A., Lambert B., et al. // *Viruses.* 2011. V. 3. P. 47–62.
87. Sbrana E., Jordan R., Hruba D.E., Mateo R.I., Xiao S.Y., Siirin M., Newman P.C., Da Rosa A.P., Tesh R.B. // *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2007. V. 76. P. 768–773.
88. Sergeev A.A., Kabanov A.S., Bulychev L.E., Sergeev A.A., Pyankov O.V., Bodnev S.A., Galahova D.O., Zamedyanskaya A.S., Titova K.A., Glotova T.I., et al. // *Transbound. Emerg. Dis.* 2017. V. 64. P. 226–236.
89. Parker S., Crump R., Foster S., Hartzler H., Hembrador E., Lanier E.R., Painter G., Schriewer J., Trost L.C., Buller R.M. // *Antiviral Res.* 2014. V. 111. P. 42–52.
90. Smee D.F. // *Future Virol.* 2013. V. 8. P. 891–901.
91. Mucker E.M., Goff A.J., Shamblin J.D., Grosenbach D.W., Damon I.K., Mehal J.M., Holman R.C., Carroll D., Gallardo N., Olson V.A., et al. // *Antimicrob. Agents Chemother.* 2013. V. 57. P. 6246–6253.
92. Berhanu A., Prigge J.T., Silvera P.M., Honeychurch K.M., Hruba D.E., Grosenbach D.W. // *Antimicrob. Agents Chemother.* 2015. V. 59. P. 4296–4300.
93. Mazurkov O.Y., Kabanov A.S., Shishkina L.N., Sergeev A.A., Skarnovich M.O., Bormotov N.I., Skarnovich M.A., Ovchinnikova A.S., Titova K.A., Galahova D.O., et al. // *J. Gen. Virol.* 2016. V. 97. P. 1229–1239.
94. Scientific Review of Variola Virus Research, 1999–2010. Geneva: World Health Organization, 2010. 128 p.
95. WHO Advisory Committee on Variola Virus Research: Report of the Eighteenth Meeting. Geneva: World Health Organization, 2017. 58 p.