

# Weekly epidemiological record

## Relevé épidémiologique hebdomadaire

10 FEBRUARY 2006, 81st YEAR / 10 FÉVRIER 2006, 81<sup>e</sup> ANNÉE

No. 6, 2006, 81, 49–60

<http://www.who.int/wer>

### Contents

- 49 Outbreak news
- Avian influenza, Indonesia – update
  - Avian influenza, Iraq – update
  - Meningococcal disease, Sudan
- 51 Future needs and directions for *Shigella* vaccines
- 59 Development and evaluation of new diagnostic tests for human African trypanosomiasis
- 60 International Health Regulations

### Sommaire

- 49 Le point sur les épidémies
- Grippe aviaire, Indonésie – mise à jour
  - Grippe aviaire, Iraq – mise à jour
  - Méningococcie, Soudan
- 51 Besoins et orientations futurs en matière de vaccins anti-*Shigella*
- 59 Mise au point et évaluation de nouveaux tests de diagnostic de la trypanosomiase humaine africaine
- 60 Règlement sanitaire international

**WORLD HEALTH  
ORGANIZATION**  
Geneva

**ORGANISATION MONDIALE  
DE LA SANTÉ**  
Genève

Annual subscription / Abonnement annuel  
Sw. fr. / Fr. s. 334.–

02.2006  
ISSN 0049-8114  
Printed in Switzerland

### ★ OUTBREAK NEWS

#### Avian influenza, Indonesia – update<sup>1</sup>

On 6 February 2006, the Ministry of Health in Indonesia confirmed 4 new cases of human infection with the H5N1 avian influenza virus, 2 of which were fatal.

The first fatal case, a 22-year-old man from West Java, died on 26 January. He worked as a banana vendor at a market in East Jakarta where poultry meat was sold. Neighbours near his home reported poultry deaths prior to the onset of his symptoms.

The second fatal case, a 15-year-old boy from West Java, died on 1 February. Deaths in chickens near his home were reported in the week prior to symptom onset.

The third case, a 9-year old girl from West Java, was hospitalized on 19 January and has since fully recovered. She lived in a village neighbouring that of the 2 fatal cases in siblings confirmed on 23 January. Investigation of those cases resulted in the girl's prompt hospitalization and treatment. Poultry deaths were reported in her village prior to symptom onset.

The fourth case, a 5-year-old boy from Lampung Province, developed symptoms in October 2005 and has since fully recovered. The child is the brother of a previously confirmed case, a 20-year-old man who developed symptoms in late September 2005 and likewise fully recovered. Both the child and his brother had direct exposure to diseased chickens during slaughtering. As initial diagnostic tests produced inconclusive results, retrospective confirmation of the child's infection relied on antibody levels

<sup>1</sup> See No. 4, 2006, pp. 33–34.

### ★ LE POINT SUR LES ÉPIDÉMIES

#### Grippe aviaire, Indonésie – mise à jour<sup>1</sup>

Le 6 février 2006, le Ministère de la Santé indonésien a confirmé 4 nouveaux cas d'infection humaine par le virus H5N1 de la grippe aviaire, dont 2 mortels.

Le premier cas mortel s'est produit chez un homme de 22 ans, de Java Ouest, décédé le 26 janvier. Il était vendeur de bananes sur un marché à l'est de Jakarta, où l'on vendait aussi de la viande de volaille. Les voisins de son domicile ont signalé des volailles mortes avant l'apparition de ses symptômes.

Le second cas mortel s'est produit chez un garçon de 15 ans, de Java Ouest, décédé le 1<sup>er</sup> février. On a signalé des poulets morts près de son domicile dans la semaine qui a précédé l'apparition de ses symptômes.

Le troisième cas concerne une fillette de 9 ans, de Java Ouest, hospitalisée le 19 janvier et qui a guéri. Elle vit dans un village à proximité de celui où les 2 cas mortels dans une fratrie ont été confirmés le 23 janvier. L'enquête sur ces cas a amené à hospitaliser et à traiter rapidement la fillette. On a signalé des volailles mortes dans son village avant l'apparition des symptômes.

Le quatrième cas est un garçon de 5 ans de la province de Lampung. Il a développé les symptômes en octobre 2005 et a complètement guéri. Cet enfant est le frère d'un cas déjà confirmé, un homme de 20 ans qui a développé les symptômes fin septembre 2005 et a guéri lui aussi. L'enfant et son frère ont été exposés directement à des poulets malades au cours de l'abattage. Comme les tests initiaux n'avaient pas donné de résultats concluants, la confirmation rétrospective de l'infection chez l'enfant s'est basée sur le titrage des anticorps dans le sang

<sup>1</sup> Voir N° 4, 2006, pp. 33–34.

in acute blood samples taken during his illness and on convalescent samples taken following recovery.

All 3 cases with recent symptom onset resided in West Java, where a resurgence of virus activity in birds has been reported.

These newly confirmed cases bring the total number of cases in Indonesia to 23, of which 16 have been fatal.

## Avian influenza, Iraq – update<sup>1</sup>

On 7 February 2006, a WHO-led team of international experts, including veterinary experts from the Food and Agriculture Organization of the United Nations, arrived in the Erbil and Sulaimaniyah area of northern Iraq, where a fatal human case of H5N1 infection was confirmed on 30 January. Confirmed outbreaks of highly pathogenic H5N1 in poultry were reported in the area on 2 February.<sup>2</sup>

The team has met with officials in the country's ministries of health and agriculture and is now assessing the situation in hospitals, laboratories and animals. A list of immediate needs for support has been established.

Government officials have expressed a need for emergency supplies and equipment, including antiviral drugs, and these have already begun to arrive in the country. A 24-hour emergency operations centre has been set up in the WHO regional office in Cairo (Egypt) to facilitate coordination and provide back-up support.

The transportation of patient samples for diagnostic confirmation has encountered difficulties. Ways to strengthen local testing capacity are being explored together with ways to expedite the shipment of samples to WHO reference laboratories. The team has noted a need to upgrade biosafety standards in local and national laboratories.

Intensive culling of poultry is under way in the area; improved diagnostic capacity for poultry is needed to better focus these efforts. Training to enhance the diagnostic capacity of veterinary laboratories and improve surveillance has already begun. Requests for essential supplies, including diagnostic reagents, are being met.

The area has around 1.3 million poultry reared mainly by individual households, who depend on these animals for income and food. Discussions are under way to develop a compensation scheme that could lessen the hardship on these families.

The team found a good system in place for detecting and managing possible human cases, collecting specimens, and tracing and monitoring contacts. Some improvements in isolation wards are planned. Intensive training courses are being organized for hospital staff to ensure that proper measures for personal protection and infection control are in place.

prélevé en phase aiguë de la maladie puis en phase de convalescence après la guérison.

Les 3 cas pour lesquels les symptômes sont apparus récemment habitaient tous à Java Ouest, où l'on a signalé une résurgence de l'activité virale chez les oiseaux.

Ces nouveaux cas confirmés portent désormais le nombre total de cas en Indonésie à 23, dont 16 mortels.

## Grippe aviaire, Iraq – mise à jour<sup>1</sup>

Le 7 février 2006, une équipe menée par l'OMS et composée d'experts internationaux ainsi que d'experts vétérinaires de l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture est arrivée dans la région d'Erbil et de Souleimaniyé (nord de l'Iraq), où un cas humain mortel d'infection à virus H5N1 a été confirmé le 30 janvier. Des flambées confirmées d'infection à virus H5N1 hautement pathogène chez les volailles ont été signalées dans la région le 2 février.<sup>2</sup>

L'équipe, qui a rencontré des responsables des Ministères irakiens de la Santé et de l'Agriculture, procède actuellement à une évaluation de la situation dans les hôpitaux et les laboratoires, ainsi que chez les animaux. Une liste des besoins immédiats a été dressée.

Les responsables irakiens ont fait part d'un besoin de fournitures et de matériels d'urgence, notamment d'antiviraux, qui ont déjà commencé à arriver dans le pays. Un centre d'opérations d'urgence ouvert 24 heures sur 24 a été mis sur pied au Bureau régional de l'OMS du Caire (Egypte), pour faciliter la coordination et apporter un soutien technique.

Des difficultés ont surgi concernant le transport des prélèvements effectués chez les patients en vue de la confirmation du diagnostic. On cherche à renforcer la capacité locale d'effectuer les tests nécessaires, ainsi qu'à accélérer l'envoi des prélèvements aux laboratoires de référence de l'OMS. L'équipe a noté qu'il convenait d'améliorer les normes de sécurité biologique dans les laboratoires locaux et nationaux.

Des opérations intensives d'abattage de volailles sont en cours dans la région et il faut améliorer les capacités de diagnostic chez les volailles afin de permettre de mieux cibler ces efforts. On a déjà commencé à donner des cours de formation pour améliorer la capacité de diagnostic des laboratoires vétérinaires ainsi que la surveillance. Les fournitures essentielles demandées, notamment les réactifs diagnostiques, sont envoyés sur place.

On compte quelque 1,3 million de volailles dans la région, principalement élevées par les familles pour compléter leur revenu et à des fins alimentaires. Des discussions sont en cours pour mettre au point un système de compensation permettant de réduire les pertes subies par ces familles.

L'équipe a trouvé qu'il y avait un bon système en place pour détecter et prendre en charge les cas humains éventuels, effectuer des prélèvements et retrouver et surveiller les contacts. Il est prévu d'apporter certaines améliorations à l'hospitalisation en isolement. Des cours de formation intensifs sont organisés à l'intention du personnel hospitalier afin que les mesures voulues soient prises pour la protection du personnel et la lutte contre l'infection.

<sup>1</sup> See No. 5, 2006, p. 42.

<sup>2</sup> See [http://www.who.int/csr/don/2006\\_02\\_02/en/index.html](http://www.who.int/csr/don/2006_02_02/en/index.html)

<sup>1</sup> Voir N° 5, 2006, p.42.

<sup>2</sup> Voir [http://www.who.int/csr/don/2006\\_02\\_02/fr/index.html](http://www.who.int/csr/don/2006_02_02/fr/index.html)

A total of 2 patients hospitalized for observation have been discharged, though their condition continues to be monitored by local health teams. Currently, 7 patients are being treated, in isolation, at hospitals in the area, most of whom have reported a history of direct contact with diseased poultry.

In addition to the confirmed fatal case, 2 patients under investigation for possible H5N1 infection have died. Specimens from one of these, the 39-year-old uncle of the confirmed case, have tested positive for H5N1 infection in a local laboratory; his infection has not yet been confirmed by a WHO reference laboratory.

A possible H5N1 case in the southern part of the country has been officially reported to WHO by the Ministry of Health. The case, a 13-year-old boy from the Omara area, developed symptoms on 1 February, was hospitalized with severe pneumonia on 5 February and died the same day. Although no poultry deaths have been reported in the area, pet birds kept by the family are said to have died near the time of symptom onset.

Samples from the boy have been taken. The Minister of Health and a team from the country's Centre for Disease Control visited the Omara area on 8 February to investigate.

## Meningococcal disease, Sudan

Between 1 and 31 January 2006, 136 suspected cases and 15 deaths of meningococcal disease were reported in 6 states of Sudan. The epidemic threshold was crossed in 2 administrative units (Guli in Blue Nile State and Wad el Heleu in Kassala State).

One specimen of cerebrospinal fluid was positive for *Neisseria meningitidis* serogroup A by latex test. Results from additional specimens sent to the National Public Health Laboratory in Khartoum are expected shortly.

The Federal Ministry of Health (FMOH) has established a National Task force including UNICEF, WHO and non-governmental organizations. WHO is supporting FMOH in its field investigations, the provision of outbreak control supplies, strengthening surveillance as well as in the assessment of vaccination needs. ■

## Future needs and directions for *Shigella* vaccines

### Background information and rationale for the meeting

The last international meeting organized by WHO to consider the state of *Shigella* vaccines took place in 1996.<sup>1</sup> At that time, recommendations were made to encourage research and development of several vaccine strategies and to better evaluate the burden of disease caused by *Shigella*. The purpose of this report is to consider advances made since 1996 and to evaluate the current disease burden and the status of *Shigella* vaccine candidates, with the goal of

Deux malades en observation ont pu quitter l'hôpital, mais leur état continue d'être suivi par des équipes sanitaires locales. Actuellement, 7 malades sont traités, en isolement, dans des hôpitaux de la région. La plupart ont signalé avoir été directement en contact avec des volailles malades.

Outre le cas mortel confirmé, l'enquête se poursuit sur 2 autres cas mortels d'infection possible par le virus H5N1. Les prélèvements effectués chez l'oncle du cas confirmé, âgé de 39 ans, ont été analysés dans un laboratoire local et se sont révélés positifs pour le virus H5N1; l'infection n'a toutefois pas encore été confirmée par un laboratoire de référence de l'OMS.

Un cas possible d'infection à H5N1 dans le sud du pays a été officiellement signalé à l'OMS par le Ministère de la Santé. Il s'agit d'un garçon de 13 ans de la région d'Omara, chez qui des symptômes sont apparus le 1er février. Hospitalisé pour une pneumonie sévère le 5 février, il est décédé le jour même. Bien qu'aucun décès de volaille n'ait été signalé dans la région, des oiseaux de compagnie seraient décédés dans sa famille environ au moment de l'apparition des symptômes.

Des prélèvements ont été effectués chez le garçon. Le 8 février, le Ministre de la Santé et une équipe du Centre irakien de lutte contre la maladie se sont rendus dans la région d'Omara pour procéder à une enquête.

## Méningococcie, Soudan

Du 1<sup>er</sup> au 31 janvier 2006, 136 cas suspects de méningococcie, dont 15 mortels, ont été signalés dans 6 Etats du Soudan. Le seuil épidémique est atteint dans 2 unités administratives (Guli dans l'Etat du Nil bleu et Wad el Heleu, dans l'Etat de Kassala).

La recherche de *Neisseria meningitidis* sérotype A par test au latex a donné un résultat positif dans le cas d'un prélèvement de liquide céphalo-rachidien. Les résultats des tests effectués sur d'autres prélèvements par le laboratoire national de la santé publique à Khartoum sont attendus prochainement.

Le Ministère fédéral de la Santé a mis sur pied une équipe spéciale nationale dont font partie l'UNICEF, l'OMS et plusieurs organisations non gouvernementales. L'OMS aide le Ministère fédéral de la Santé dans différents domaines: analyses sur le terrain, fournitures pour la lutte contre les flambées, renforcement de la surveillance et évaluation des besoins en vaccins. ■

## Besoins et orientations futurs en matière de vaccins anti-*Shigella*

### Rappel des faits et objet de la réunion

La dernière réunion internationale organisée par l'OMS pour étudier l'état d'avancement des vaccins anti-*Shigella* s'est tenue en 1996.<sup>1</sup> A l'époque, des recommandations avaient été formulées pour encourager la recherche et le développement de plusieurs stratégies vaccinales et mieux évaluer la charge de morbidité due aux *Shigella*. L'objet du présent rapport est d'examiner les progrès réalisés depuis 1996, d'évaluer la charge de morbidité actuellement imputable aux *Shigella* et l'état d'avancement des vaccins candidats

<sup>1</sup> See No. 72, 1997, pp. 73-79.

<sup>1</sup> Voir N° 72, 1997, pp. 73-79.

establishing recommendations to guide the field over the next 5–10 years.

### **Burden of disease caused by *Shigella***

A recent report comparing estimates of the current global burden of diarrhoeal disease with previously published estimates has highlighted that the incidences of diarrhoea have not changed, although overall diarrhoeal mortality has declined. For children aged under 5 years in developing countries, a median of 3.2 diarrhoeal episodes occurred per child-year, which is similar to that reported previously. Estimates of mortality indicated that 4.9 children per 1000 per year in these regions died as a result of diarrhoeal illness in the first 5 years of life. This is a decline from the previous estimates of 13.6/1000 in 1959–1979 and 5.6/1000 in 1980–1989. The decrease was most pronounced in infants aged under 1 year; diarrhoeal disease caused by *Shigella* accounts for a high percentage of this mortality. Previous estimates suggested that 1 million deaths occurred per year in children aged under 5 years, mostly in developing countries. In addition, it was reported that 164.7 million *Shigella* episodes are estimated worldwide, with 69% of all episodes in young children. This disease burden underscores the importance of *Shigella* as a public health priority. However, given the overall global reduction in diarrhoeal mortality, new estimates are still lacking for the burden of *Shigella* mortality, which may be available shortly. A complicating factor in the treatment of *Shigella* is the widespread isolation of strains resistant to multiple antibiotics, leaving few therapeutic options. A vaccine to prevent illness and death caused by *Shigella* would be a valuable public health tool with strong impact.

### **Current approaches to *Shigella* vaccines**

An overview of 2 approaches to *Shigella* vaccines was presented: the live attenuated strategy and the lipopolysaccharide (LPS)-conjugate strategy. Both approaches have shown promise, with efficacy demonstrated in human trials with representative candidates of each type.

### **Live, attenuated *Shigella* vaccine candidates**

Multiple live, attenuated *Shigella* vaccine candidates exist at various levels of evaluation. Human clinical trials have been used to demonstrate that protective immunity can be elicited using this strategy. Studies conducted in the 1970s demonstrated efficacy in large field trials with mixtures of attenuated *Shigella* strains. More recently, SC602 was shown to protect volunteers against challenge with wild-type *S. flexneri*. Other candidates have shown promise in Phase I trials and are reviewed below.

### **Clinical trials update of SC602 in American volunteers**

A *S. flexneri* 2a vaccine strain SC602 was constructed at the Pasteur Institute by the deletion of the *icsA* and *iuc* genes

anti-*Shigella*, dans le but de formuler des recommandations visant à orienter les travaux dans ce domaine dans les 5 à 10 ans à venir.

### **Charge de morbidité due aux *Shigella***

Un rapport récent, comparant les estimations de la charge de morbidité mondiale actuellement imputable aux maladies diarrhéiques aux estimations publiées antérieurement, a souligné le fait que l'incidence de la diarrhée n'a pas bougé, même si la mortalité générale par maladie diarrhéique a diminué. Concernant les enfants de moins de 5 ans vivant dans les pays en développement, on observe une médiane de 3,2 épisodes diarrhéiques par enfant-année, semblable à celle rapportée antérieurement. Les estimations de la mortalité indiquent que 4,9 enfants pour 1000 meurent chaque année dans ces régions par suite d'une maladie diarrhéique au cours des 5 premières années de leur vie. Il s'agit là d'une diminution par rapport aux estimations antérieures, qui étaient de 13,6/1000 entre 1959 et 1979 et de 5,6/1000 entre 1980 et 1989. Cette diminution est très marquée chez les nourrissons de moins d'1 an; la maladie diarrhéique due aux shigelles représente un pourcentage élevé de cette mortalité. Les estimations antérieures laissaient à penser qu'un million de décès se produisaient chaque année chez les enfants de moins de 5 ans, principalement dans les pays en développement. En outre, on estime à 164,7 millions le nombre d'épisodes de shigellose notifiés dans le monde, dont 69% chez les jeunes enfants. Cette charge de morbidité souligne l'importance des shigelles en tant que priorité de santé publique. Toutefois, étant donné la diminution mondiale générale observée dans la mortalité par maladie diarrhéique, de nouvelles estimations manquent encore concernant le poids de la mortalité par shigellose, qui devraient être disponibles sous peu. Un facteur qui vient compliquer le traitement des shigelloses est l'isolement très répandu de souches résistantes à de nombreux antibiotiques, qui laissent peu de solutions thérapeutiques. Un vaccin capable de prévenir la maladie et le décès dû aux shigelles constituerait donc un instrument de santé publique précieux dont les retombées seraient importantes.

### **Méthodes actuelles de préparation des vaccins anti-*Shigella***

Un aperçu des 2 approches utilisées pour la mise au point de vaccins anti-*Shigella* a été présenté: la stratégie du vaccin vivant atténué et celle du vaccin conjugué lipopolysaccharidique (LPS). Ces deux méthodes se sont avérées prometteuses, avec une efficacité démontrée lors d'essais réalisés chez l'homme avec des vaccins candidats représentatifs de chaque type.

### **Vaccins candidats anti-*Shigella* vivants atténués**

Il existe de nombreux vaccins candidats anti-*Shigella* vivants atténués présentant divers degrés d'évaluation. Des essais cliniques chez l'homme ont été utilisés pour démontrer qu'une immunité protectrice peut être obtenue à l'aide de cette stratégie. Des études réalisées dans les années 1970 ont mis en évidence l'efficacité de mélanges de souches de shigelles atténuées dans de grands essais effectués sur le terrain. Plus récemment, on a montré que la souche SC602 protégeait des volontaires contre une inoculation d'épreuves par *S. flexneri* de type sauvage. D'autres vaccins candidats se sont avérés prometteurs dans des essais de phase I et sont examinés ci-après.

### **Le point sur les essais cliniques du SC602 chez des volontaires américains**

Une souche vaccinale de *S. flexneri* 2a, à savoir la souche SC602, a été fabriquée par l'Institut Pasteur par délétion des gènes *icsA* et *iuc*

(the invasion plasmid for cell-to-cell spread and the aerobactin gene). SC602 is fully invasive for tissue culture cells, but intercellular spread is negated. SC602 was manufactured by the Walter Reed Army Institute of Research as a lyophilized vaccine product under current good manufacturing practices. Phase I trials determined a dose of  $10^4$  for further evaluation.

In a series of clinical trials, a total of 58 North American volunteers ingested  $10^4$  CFU (colony-forming units) of SC602; 90% of volunteers excreted the vaccine strain 7 days after inoculation and 19% experienced short-term fever or diarrhoea; 9% had headaches or intestinal cramps that inhibited normal activity. The presumptive vaccine reactivity rate was 30%. Immunogenicity was demonstrated in 75% of the 24 inpatient volunteers who had significant LPS-specific ASC responses, 66% of these were IgA (GM = 47 ASC). In a challenge study, 6/7 naive controls developed severe shigellosis following challenge with  $10^3$  CFU virulent *S. flexneri* 2a, while 0/7 vaccinees developed dysentery, fever or shigellosis. A single inoculation with SC602 protected against the debilitating symptoms of shigellosis in a stringent experimental challenge model.

### Clinical trials of SC602 in Bangladesh

An adult inpatient Phase I clinical trial was conducted at the International Centre for Diarrhoeal Disease Research in Bangladesh (ICDDR,B). No significant reactivity occurred at doses of  $10^4$ ,  $10^5$  or  $10^6$  CFU. Short-term colonization was seen only after the  $10^6$  CFU dose; a sero-response was observed in 2/5 volunteers at the  $10^6$  dose. A second Phase I study was performed as an outpatient study in 68 adult volunteers who received doses of  $10^4$ ,  $10^5$  or  $10^6$  CFU. No diarrhoeal episodes or significant side-effects were observed, and SC602 was not isolated in the stool of the volunteers. In addition, there was no household transmission recorded. The sero-response was infrequent and not dose related.

A Phase I study was then performed in children aged 8–10 years who received doses of  $10^4$ ,  $10^5$  or  $10^6$  CFU. Again, no diarrhoeal episodes or significant side-effects were observed. However, no colonization as evidenced by stool shedding or sero-response was observed. A Phase I clinical study was then performed in 12–36-month-old children who received doses of SC602 of  $10^3$ ,  $10^4$ ,  $10^5$  or  $10^6$  CFU. No colonization and no increased rate of diarrhoeal episodes or fever were observed in vaccinees over controls. No consistent increase in serum antibody against *S. flexneri* 2a LPS was observed in any group either. Thus, although the vaccine candidate appeared to be useful in adult volunteers in the United States, it was apparently overly attenuated for the target population in an endemic region.

### Update on the clinical trials with SC599

*S. dysenteriae* type 1 vaccine strain SC599 was constructed at the Pasteur Institute in Paris (France) by creating deletions in several genes including *icsA*, *ent*, *fep* and *stxA*-negative: HgR. A Phase I clinical trial of a single escalating dose for safety and immunogenicity of vaccine strain SC599 was performed in 28 healthy adult volunteers at St. George's

(plasmide d'invasion servant à la propagation intercellulaire et gène de l'aérobactine). La souche SC602 est pleinement invasive dans les cellules de culture tissulaire, mais sa propagation intercellulaire est neutralisée. La SC602 a été fabriquée par le *Walter Reed Army Institute of Research* sous forme de vaccin lyophilisé produit conformément aux bonnes pratiques de fabrication du moment. Les essais de phase I ont permis de déterminer une dose de  $10^4$  UFC à évaluer de manière approfondie.

Dans une série d'essais cliniques, un total de 58 volontaires Nord-Américains ont ingéré  $10^4$  UFC (unités formant colonie) de SC602; 90% des volontaires excrétaient la souche vaccinale 7 jours après l'inoculation et 19% ont présenté une fièvre ou une diarrhée de courte durée; 9% ont eu des céphalées ou des crampes intestinales qui les ont empêchés de mener leurs activités normales. Le taux présomptif de réactogénicité a été de 30%. L'immunogénicité a été mise en évidence chez 75% des 24 volontaires hospitalisés, qui ont montré des réponses importantes en anticorps sécrétoires anti-LPS, dont 66% sous forme d'IgA (GM = 47 ASC). Dans une étude d'inoculation d'épreuve, 6 témoins neufs sur 7 ont présenté une shigellose grave suite à une inoculation d'épreuve de  $10^3$  UFC de *S. flexneri* 2a virulente, tandis qu'aucune des 7 personnes vaccinées n'a présenté de dysenterie, de fièvre ni de shigellose. Une inoculation unique du vaccin SC602 a protégé contre les symptômes débilitants de la shigellose dans un modèle expérimental rigoureux d'inoculation d'épreuve.

### Essais cliniques du SC602 au Bangladesh

Un essai clinique de phase I chez des adultes hospitalisés a été effectué au Centre international de Recherche sur les Maladies diarrhéiques du Bangladesh (ICDDR,B). Aucune réactogénicité significative n'a été enregistrée aux doses de  $10^4$ ,  $10^5$  ou  $10^6$  UFC. Une colonisation à court terme n'a été observée qu'après une dose de  $10^6$  UFC; une réponse sérologique a été observée chez 2 volontaires sur 5 à la dose de  $10^6$  UFC. Une deuxième étude de phase I a été effectuée en ambulatoire chez 68 adultes recevant des doses de  $10^4$ ,  $10^5$  et  $10^6$  UFC. Aucun épisode diarrhéique ni effet secondaire significatif n'ont été observés et le SC602 n'a pas été isolé dans les selles des volontaires. En outre, aucune transmission n'a été signalée dans l'entourage familial. La réponse sérologique a été rare et sans lien avec la dose.

Une étude de phase I a ensuite été effectuée chez des enfants âgés de 8 à 10 ans, qui ont reçu des doses de  $10^4$ ,  $10^5$  ou  $10^6$  UFC. A nouveau, aucun épisode diarrhéique ni effet secondaire important n'ont été observés. Toutefois, aucune colonisation mise en évidence par une élimination bactérienne dans les selles ni aucune réponse sérologique n'ont été observées. Une étude clinique de phase I a ensuite été effectuée chez des enfants âgés de 12 à 36 mois, qui ont reçu des doses de SC602 de  $10^3$ ,  $10^4$ ,  $10^5$  ou  $10^6$  UFC. Aucune colonisation ni aucune augmentation de la fréquence des épisodes diarrhéiques ou fébriles n'ont été observées chez les enfants vaccinés par rapport aux témoins. Pas plus qu'on n'a observé d'augmentation régulière de la concentration sérique en anticorps anti-LPS de *S. flexneri* 2a dans l'un des groupes. Ainsi, si ce vaccin candidat a semblé efficace chez des volontaires adultes aux Etats-Unis, il a apparemment été trop atténué pour la population cible d'une région d'endémie.

### Le point sur les essais cliniques réalisés avec le SC599

La souche vaccinale SC599 préparée à partir de *S. dysenteriae* type 1 a été fabriquée à l'Institut Pasteur de Paris (France) en procédant à des délétions dans plusieurs gènes: *icsA*, *ent*, *fep* et *stxA*-négatif: HgR. Un essai clinique de phase I pour vérifier l'innocuité et l'immunogénicité d'une dose croissante unique de la souche vaccinale SC599 a été effectué chez 28 adultes en bonne santé au

Vaccine Institute in London (United Kingdom). Cohorts of 4 subjects received sequentially doses of  $10^2$ ,  $10^3$ ,  $10^4$ ,  $10^5$ ,  $10^6$  or  $10^7$  CFU. Regulations regarding the use of a genetically modified organism directed the use of strict isolation conditions. Modifications to standard operating procedures (SOPs) for *Shigella* isolation were used, as the vaccine organisms took 2–3 days to form colonies upon isolation. The vaccine was well tolerated, with no significant side-effects reported. Mild symptoms of abdominal cramps and some increased bowel habit were reported in the immediate post-vaccination period but were not dose related. Stool shedding was extremely low: only 3 subjects had vaccine detectable in the stool, and all for only 1 day. There were no detectable ASC responses to LPS from doses of  $10^2$ – $10^4$  CFU logs. Doses from 5 logs and upward elicited peak ASC responses on day 9 but were dose-independent. The mean IgA ASC response in this group was 50. Serum antibody responses were modest or absent.

In general, SC599 was highly attenuated and was well tolerated at doses up to  $10^8$  CFU. It was capable of inducing mucosal ASC responses but not significant serum antibody responses.

#### Future development of SC602 and SC599

The future development of SC602 and SC599 was presented. A Phase IIa study is planned for SC599 to compare the immunogenicity of 2 doses ( $10^5$  and  $10^7$  CFU) versus a placebo in healthy volunteers. An additional assessment of the clinical tolerance and evaluation of duration of shedding will be performed. Future studies of SC602 may include phase I and dose-ranging clinical trials in adults, and then in adolescents in endemic countries to determine the safety and reactogenicity of the higher doses. To move forward with a multivalent vaccine, strains must be constructed and safety studies performed in European countries, followed by safety studies in developing countries. A multivalent vaccine trial could occur as early as 2009.

#### Clinical trials update of SSRW1

A Phase I, dose-escalating trial of *S. sonnei* vaccine strain WRSS1 (deleted of *icsA*) was conducted in Israel. This open study was performed in an outpatient setting to evaluate safety, immunogenicity and transmissibility of the vaccine strain. A total of 3 cohorts ingested  $10^3$ ,  $10^4$  or  $10^5$  CFU of vaccine. For each vaccine, a close contact sharing the same home was recruited. The vaccine strain was excreted in 60%, 80% and 73% of volunteers from the 3 dose ranges respectively for an average of 6 days. None of the close contacts excreted the vaccine strain. A dose-dependent ASC response was found with peak mean IgA LPS ASC responses of 41, 46 and 135 in the cohorts receiving doses of  $10^3$ ,  $10^4$  and  $10^5$  CFU, respectively. A strong correlation was demonstrated between vaccine excretion and ASC response. A 3-fold serum anti-LPS IgA response was elicited in 47%, 60% and 67% of the volunteers in each cohort. The doses of  $10^3$  and  $10^4$  CFU were generally well tolerated, but vaccination was often associated with temporary changes in bowel habits. Moderate symptoms were more prevalent after ingestion of the  $10^5$  CFU dose, with fever and/or moderate diarrhoea reported in 4/15 volunteers.

*St. George's Vaccine Institute* de Londres (Royaume-Uni). Des cohortes de 4 sujets ont reçu de manière séquentielle des doses de  $10^2$ ,  $10^3$ ,  $10^4$ ,  $10^5$ ,  $10^6$  ou  $10^7$  UFC. Les réglementations concernant l'utilisation d'organismes génétiquement modifiés ont imposé des règles d'isolement strictes. Des modifications ont été apportées aux modes opératoires normalisés (MON) d'isolement des shigelles, les bactéries vaccinales ayant mis 2 à 3 jours pour former des colonies en isolement. Le vaccin a été bien toléré et aucun effet secondaire important n'a été signalé. Des symptômes bénins de crampes abdominales et d'émission accrue des selles ont été signalés dans la période suivant immédiatement la vaccination, mais ils n'étaient pas liés à la dose. L'excrétion de la souche vaccinale dans les selles a été extrêmement faible: seuls 3 sujets ont présenté des concentrations décelables dans les selles, et seulement pendant 24 heures. Il n'y a pas eu de réponse des ASC (cellules sécrétrices d'anticorps) décelable contre le LPS avec les doses de  $10^2$  à  $10^4$  UFC. A partir de  $10^5$  UFC, les doses ont provoqué des pics de réponses des ASC au neuvième jour, mais indépendamment de la dose. La réponse moyenne en IgA sécrétoires dans ce groupe a été de 50. Les réponses en anticorps sériques ont été modestes ou absentes.

En général, la souche SC599 a été hautement atténuée et a été bien tolérée à des doses atteignant jusqu'à  $10^8$  UFC. Elle a été capable d'induire des réponses muqueuses des ASC, mais pas des réponses en anticorps sériques importantes.

#### Future mise au point du SC602 et du SC599

La mise au point future des vaccins SC602 et SC599 a été présentée. Une étude de phase IIa est prévue pour le SC599 afin de comparer l'immunogénicité de 2 doses  $10^5$  et  $10^7$  contre un placebo chez des volontaires en bonne santé. Une évaluation supplémentaire de la tolérance clinique et une évaluation de la durée d'excrétion bactérienne seront effectuées. Les études futures sur le SC602 pourront comprendre des essais cliniques de phase I et d'évaluation du dosage chez l'adulte, puis chez l'adolescent des pays d'endémie afin de déterminer l'innocuité et la réactogénicité des doses élevées. Pour passer à un vaccin multivalent, il faut fabriquer des souches et procéder à des études d'innocuité dans les pays européens, puis dans les pays en développement. Un essai de vaccin multivalent pourrait avoir lieu dès 2009.

#### Le point sur les essais cliniques du SSRW1

Un essai de phase I, comportant l'administration de doses croissantes de la souche vaccinale de *S. sonnei* WRSS1 (délétion de *icsA*), a été effectué en Israël. Cette étude ouverte a été effectuée en ambulatoire afin d'évaluer l'innocuité, l'immunogénicité et la transmissibilité de la souche vaccinale. Au total, 3 cohortes ont ingéré  $10^3$ ,  $10^4$  ou  $10^5$  UFC de vaccin. Pour chaque vaccin, un contact proche partageant le même domicile a été recruté. La souche vaccinale a été excrétée par 60%, 80% et 73 % des volontaires des 3 groupes respectifs pendant en moyenne 6 jours. Aucun des contacts proches n'a excrété la souche vaccinale. Une réponse des ASC dépendante de la dose a été trouvée, avec des pics de réponse moyenne en IgA anti-LPS de 41, 46 et 135 dans les cohortes recevant  $10^3$ ,  $10^4$  et  $10^5$  UFC, respectivement. On a mis en évidence une forte corrélation entre l'excrétion du vaccin et la réponse des ASC. Une réponse en IgA anti-LPS sériques multipliée par 3 a été obtenue chez 47%, 60% et 67% des volontaires de chaque cohorte. Les doses de  $10^3$  et  $10^4$  UFC ont été en général bien tolérées, mais la vaccination a souvent été associée à des modifications temporaires du nombre d'émissions des selles. Des symptômes modérés ont été plus fréquents après l'ingestion de la dose de  $10^5$  UFC, qui s'est accompagnée de fièvre et/ou de diarrhée modérée chez 4 volontaires sur 15.

## Update of the CVD series of *Shigella* vaccines

An update of the clinical trials performed with the CVD series of attenuated vaccine candidates was reviewed. *S. flexneri* 2a vaccine CVD 1203 (with deletions in *aroA* and *icsA*) tested at doses of  $10^6$ ,  $10^8$  and  $10^9$  CFU demonstrated increasing reactogenicity, with escalating doses to 80% adverse reactions in the highest dose group. This candidate was also found to be increasingly immunogenic, with increasing doses reaching a mean peak IgA LPS ASC response of 175 in the highest dose group.

Vaccine strain CVD 1207 (with deletions in *guaBA*, *set*, *sen* and *icsA*) was tested at doses of  $10^6$ ,  $10^7$ ,  $10^8$ ,  $10^9$  and  $10^{10}$  CFU. This strain was very well tolerated, with a single adverse reaction recorded at the highest dose. Immunogenicity was correspondingly modest, with a mean peak IgA ASC response of 35 achieved in the highest dose group.

Vaccine strains CVD 1204 (with a deletion in *guaBA*) and CVD 1208 (with deletions in *guaBA*, *set*, and *sen*), were tested at doses of  $10^7$ ,  $10^8$  and  $10^9$  CFU. Following ingestion of CVD 1204, 4/23 volunteers exhibited fever and 4/23 had dysentery. No volunteer ingesting CVD 1208 at any dose exhibited fever or dysentery. Strong immune responses were observed with both vaccine candidates, with CVD1204 vaccinees achieving peak IgA LPS ASC responses of 445 in the highest dose group. CVD 1208 vaccinees achieved mean peak IgA LPS ASC values of 62 in the highest dose group. These immune response levels are associated with clinical protection.

While both vaccine strains were significantly less virulent than the wild-type parent, it was concluded that the *sen* and *set* deletions in CVD 1208 added a level of attenuation to this strain over the *guaBA* mutation alone, rendering CVD 1208 non-reactogenic while remaining immunogenic. The roles of *sen* and *set* need further exploration.

## Multivalent *Shigella* vaccines

The CVD strategy for a multivalent *Shigella* vaccine that can provide broad coverage against disease includes *S. flexneri* 2a, *S. flexneri* 3a, *S. flexneri* 6, *S. sonnei* and *S. dysenteriae* Type I. Attenuated strains of *S. sonnei* and *S. dysenteriae* have been developed that contain deletions in *guaBA* and *sen*. The *S. dysenteriae* strain contains an additional deletion in the *stx* genes. An assessment of the immunogenicity of multiple attenuated *Shigella* strains in a multivalent formulation was evaluated using a mixed inoculum consisting of *S. flexneri* 2a strain CVD 1208-soy, *S. sonnei* strain CVD 1233 and *S. dysenteriae* strain CVD 1252. These vaccine strains are also being evaluated for use as live vectors for the expression of enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC) antigens and have been modified to express fimbrial and LT antigens as well. Following immunization in the guinea-pig model with the mixed inoculum, the animals responded with strong serum and mucosal antibody responses against each of the 3 *Shigella* strains included. Using the Sereny test for challenge with

## Le point sur la gamme CVD de vaccins anti-*Shigella*

On a fait le point des essais cliniques effectués avec la gamme CVD de vaccins candidats atténués. Le vaccin CVD 1203, préparé à partir de *S. flexneri* 2a (avec des délétions dans les gènes *aroA* et *icsA*) testé aux doses de  $10^6$ ,  $10^8$  et  $10^9$  UFC, a montré une réactogénéité croissante qui, à doses croissantes, a provoqué jusqu'à 80% de réactions indésirables dans le groupe ayant reçu la dose la plus forte. Ce vaccin candidat s'est également avéré de plus en plus immunogène, les doses croissantes permettant d'obtenir une réponse des ASC avec un pic moyen d'IgA anti-LPS atteignant 175 dans le groupe recevant la plus forte dose.

La souche vaccinale CVD 1207 (avec des délétions dans les gènes *guaBA*, *set*, *sen* et *icsA*) a été testée aux doses de  $10^6$ ,  $10^7$ ,  $10^8$ ,  $10^9$  et  $10^{10}$  UFC. Cette souche a été très bien tolérée avec une seule réaction indésirable signalée à la dose la plus forte. L'immunogénéité a été proportionnellement modeste, avec un pic moyen d'IgA sécrétoires de 35 obtenu dans le groupe ayant reçu la plus forte dose.

Les souches vaccinales CVD 1204 (avec une délétion dans le gène *guaBA*) et CVD 1208 (avec des délétions dans les gènes *guaBA*, *set* et *sen*) ont été testées aux doses de  $10^7$ ,  $10^8$  et  $10^9$  UFC. Après ingestion du CVD 1204, 4 volontaires sur 23 ont montré de la fièvre et 4 volontaires sur 23 de la dysenterie. Aucun des volontaires ayant ingéré le CVD 1208 à quelque dose que ce soit n'a montré de fièvre ni de dysenterie. De fortes réponses immunitaires ont été observées avec ces deux vaccins candidats, les personnes ayant été vaccinées par le CVD 1204 parvenant à des pics d'IgA anti-LPS sécrétoires de 445 dans le groupe ayant reçu la plus forte dose. Les personnes vaccinées par le CVD 1208 ont obtenu un pic moyen d'IgA anti-LPS de 62 dans le groupe ayant reçu la plus forte dose. Ces réponses immunitaires sont associées à une protection clinique.

Alors que ces deux souches vaccinales sont nettement moins virulentes que le parent de type sauvage, on en a conclu que les délétions *sen* et *set* opérées dans la souche CVD 1208 permettaient d'atténuer encore cette souche par rapport à la mutation *guaBA* seule, rendant la souche CVD 1208 non réactogène tout en conservant son immunogénéité. Le rôle des gènes *sen* et *set* doit être analysé plus avant.

## Vaccins anti-*Shigella* multivalents

La stratégie CVD de mise au point d'un vaccin anti-*Shigella* multivalent capable de fournir une large couverture contre la maladie comprend *S. flexneri* 2a, *S. flexneri* 3a, *S. flexneri* 6, *S. sonnei* et *S. dysenteriae* type 1. On a mis au point des souches atténuées de *S. sonnei* et *S. dysenteriae* qui contiennent des délétions dans les gènes *guaBA* et *sen*. La souche de *S. dysenteriae* comporte une délétion supplémentaire dans les gènes *stx*. Une évaluation de l'immunogénéité de plusieurs souches atténuées de *Shigella* rassemblées dans une formulation multivalente a été faite au moyen d'un inoculum consistant en un mélange de la souche CVD 1208-soy de *S. flexneri* 2a, de la souche CVD 1233 de *S. sonnei* et de la souche CVD 1252 de *S. dysenteriae*. Ces souches vaccinales sont également évaluées pour servir de vecteurs vivants à l'expression des antigènes d'*Escherichia coli* entérotoxigène (ETEC) et ont été modifiées pour exprimer également les antigènes fimbriaux et LT. Après vaccination du modèle de cobaye par ce mélange, les animaux ont montré de fortes réponses en anticorps sériques et muqueux contre chacune des 3 souches de *Shigella* présentes dans le vaccin. En appliquant le

the 3 different parental wild-type *Shigella* strains, animals were protected against challenge with homologous but not heterologous challenge strains. Animals immunized with mixtures of strains exhibited at least partial protection against each parental strain included in the inoculum.

### Development of a Ty21a-based *Shigella* vaccine

The use of the live, attenuated *Salmonella typhi* vaccine strain Ty21a as a carrier for *Shigella* LPS antigens was presented. The advantages of this approach include needle-free delivery and a long safety record for Ty21a. Disadvantages include uncharacterized mutations in Ty21a, a requirement for multiple doses and for cold-chain distribution. Studies with early versions of hybrid strains demonstrated the promise of this strategy, with protection in volunteers, but these candidates were not unexpectedly unstable. Improvements in the current candidate strains include stable expression of *S. sonnei* or *S. dysenteriae* LPS by use of stable plasmid platforms and molecular manipulations including removal of IS sequences. Preliminary mouse studies demonstrate protection against challenge with these candidates. Future studies include downsizing *S. flexneri* LPS, and isolation of serotypes 3a and 6 for expression in Ty21a in addition to a multivalent vaccine formulation.

### Alternative *Shigella* vaccine candidates

Several other *Shigella* vaccine candidates have been developed and have shown promise in clinical trials. By far the most advanced approach is the O-specific polysaccharide-protein conjugate, which has demonstrated protective efficacy in human trials. Other approaches include ribosomal vaccines and inactivated whole-cell vaccines. The status of these candidates is presented below.

### Concept and design of conjugate vaccines against *Shigella*

Since the O-specific polysaccharide LPS domain of *Shigella* is essential for its virulence and immunity, the development of a vaccine should examine the similarities with the *Haemophilus influenzae* conjugate vaccine, which has demonstrated vast success. Non-pathogenic cross-reacting antigens contribute to development of "natural" O-polysaccharide antibodies. O-polysaccharide can be prepared with only trace contaminants but alone is non-immunogenic because of its comparatively low molecular weight. Protein conjugates are safe and elicited an age-related response in young adults down to 1–4-year-olds. In a small-scale efficacy trial, a *S. sonnei* conjugate conferred about 74% protection to Israeli recruits who suffered from a high rate of shigellosis during their basic training. Conjugate-induced IgG anti-O-polysaccharide levels remained higher than that following disease for at least 2 years. Synthetic tetrasaccharides of increasing length, corresponding to the O-polysaccharide of *S. dysenteriae*, have been prepared and bound to protein.

test de Sereny pour l'inoculation d'épreuve par les 3 souches parentales de type sauvage, les animaux ont été protégés contre une inoculation d'épreuve par les souches homologues, mais pas contre l'inoculation d'épreuve par des souches hétérologues. Les animaux vaccinés par des mélanges de souches ont montré une protection au moins partielle contre chacune des souches parentales figurant dans l'inoculum.

### Mise au point d'un vaccin anti-*Shigella* basé sur la souche Ty21a

L'utilisation de la souche vaccinale atténuée Ty21a de *Salmonella typhi* comme souche porteuse des antigènes LPS de *Shigella* a été présentée. Les avantages de cette approche comprennent son administration sans aiguille et le dossier d'innocuité de la souche Ty21a établi depuis longtemps. Parmi les inconvénients figurent des mutations non caractérisées dans cette souche, la nécessité d'avoir recours à plusieurs doses et à une chaîne du froid pour la distribution. Les études effectuées avec les premières versions des souches hybrides ont mis en évidence l'aspect prometteur de cette stratégie en protégeant les volontaires, mais ces vaccins candidats n'ont pas été instables comme on aurait pu s'y attendre. Les améliorations apportées aux souches candidates actuelles comprennent l'expression stable des LPS de *S. sonnei* ou *S. dysenteriae* grâce à l'utilisation de «plates-formes plasmidiques» stables et de manipulations moléculaires comprenant l'élimination des séquences IS. Les études préliminaires réalisées chez la souris mettent en évidence une protection contre l'inoculation d'épreuve conférée par ces vaccins candidats. Les études à venir porteront sur la réduction des LPS de *S. flexneri* et sur l'isolement des sérotypes 3a et 6 pour les exprimer dans la souche Ty21a et leur adjonction dans une formulation multivalente du vaccin.

### Autres vaccins candidats anti-*Shigella*

Plusieurs autres vaccins candidats anti-*Shigella* ont été mis au point et se sont avérés prometteurs dans des essais cliniques. L'approche la plus avancée est de loin celle du vaccin conjugué polysaccharide O-protéine qui a montré une efficacité protectrice dans des essais effectués chez l'homme. Les autres approches comprennent les vaccins ribosomiaux et les vaccins inactivés à germes entiers. L'état d'avancement de ces vaccins candidats est présenté ci-après.

### Conception des vaccins conjugués anti-*Shigella*

Puisque le domaine LPS du polysaccharide O de *Shigella* est indispensable à la virulence de celle-ci et aux phénomènes immunitaires, l'élaboration d'un vaccin devrait passer par un examen des similitudes qui existent avec le vaccin conjugué anti-*Haemophilus influenzae*, qui a fait la preuve de sa réussite exemplaire. Les antigènes non pathogènes qui présentent des réactions croisées favorisent le développement d'anticorps anti-polysaccharide O «naturels». Le polysaccharide O peut être préparé avec seulement des traces de contaminants, mais seul il n'est pas immunogène à cause de son poids moléculaire comparativement faible. Les conjugués protéiques sont sûrs et provoquent une réponse en fonction de l'âge depuis les jeunes adultes jusqu'aux enfants de 1 à 4 ans. Dans un essai d'efficacité à petite échelle, un vaccin conjugué préparé à partir de *S. sonnei* a conféré une protection d'environ 74% aux jeunes recrues israéliennes qui souffraient d'une fréquence élevée d'épisodes de shigellose au cours de leur formation de base. Les concentrations d'IgG anti-polysaccharide O du vaccin conjugué sont restées plus élevées qu'après la maladie pendant au moins



Conjugates of these synthetic saccharides have been prepared of increasing chain length and density. An optimal configuration elicited significantly higher levels of IgG antibodies than conjugates prepared with the natural product. The synthetic approach has greatly facilitated standardization of immune responses.

### Status of clinical trials with conjugate vaccines

Detoxified O-specific polysaccharide protein conjugate vaccines have been developed as *S. flexneri* 2a-rEPA and *S. sonnei*-rEPA. These have been tested in clinical trials and found to be safe and highly immunogenic after a single dose in young adults. Antibody levels persisted at high levels up to 2 years and at strong (40–50%) levels up to 4 and 5 years post vaccination. Serum IgG levels were higher following vaccination than following natural infection. LPS-specific IgA ASC responses were elicited at high levels (3311 for the *S. sonnei* conjugate and 693 for the *S. flexneri* conjugate). The *S. sonnei* conjugate demonstrated a good level of protective efficacy. The vaccines were convenient for use under field conditions.

### Alternative strategies with inactivated vaccines

An inactivated whole-cell vaccine consisting of *S. sonnei* grown with deoxycholate to increase surface proteins and treated with formalin was developed. Groups of volunteers received 3 or 5 oral doses containing  $10^{10}$  inactivated cells or a placebo. Both vaccine regimens were well tolerated, with no fever or gastrointestinal symptoms noted. Serum IgG or IgA responses to the inactivated vaccine were seen in 86% of vaccines, to LPS in 57% and to *IpaC* in 61%. Faecal IgA responses to these 3 antigens developed in 5/5, 3/5 and 3/5 subjects, respectively. An intranasal proteosome *S. flexneri* 2a LPS vaccine was tested. Vaccinees received 2 doses containing 1 mg of LPS complexed with outer membrane proteins from *Neisseria meningitidis*. The vaccine was well tolerated, with only mild reactions including nasal congestion and rhinorrhoea occurring in vaccine recipients. Increases in serum IgG and IgA to *S. flexneri* LPS were higher in vaccines than in placebos. Peak anti-LPS IgA and IgG ASCs were 17.6 and 10.6 in vaccines and 0.5 and 0.3 for placebos. At 4–9 weeks post vaccination, subjects were challenged with 500 CFU of *S. flexneri* 2a. The protective efficacy of the vaccine against the primary end-point, diarrhoea, dysentery or fever was 36%.

### Status of ribosomal vaccines for *Shigella*

The process of development for *Shigella* ribosome vaccine was presented. Purified ribosomes from bacteria have O-antigen covalently bound to their surface. O-antigens attached to ribosome can convert the response from a T-cell-independent to T-cell-dependent response. Vaccination with these ribosomal vaccines induces mucosal immunity following parental administration. A method for the production of parenteral vaccine has been developed at the International Vaccine Institute and is adaptable to large-scale vaccine manufacture. Most developing country

2 ans. Des tétrasaccharides de synthèse d'une longueur accrue, correspondant au polysaccharide O de *S. dysenteriae*, ont été préparés et fixés à une protéine. On a préparé des conjugués de ces saccharides de synthèse dont la longueur de la chaîne et la densité étaient accrues. Une configuration optimale a déclenché une réponse en IgG nettement plus importante que les conjugués préparés avec le produit naturel. L'approche synthétique a grandement facilité la normalisation des réponses immunitaires.

### Etat d'avancement des essais cliniques avec les vaccins conjugués

On a mis au point des vaccins conjugués polysaccharide O-protéine détoxifiés, à savoir les vaccins *S. flexneri* 2a-rEPA et *S. sonnei*-rEPA. Ces deux vaccins ont été testés dans des essais cliniques et se sont avérés sûrs et hautement immunogènes après une dose unique chez les jeunes adultes. Des taux d'anticorps élevés ont persisté pendant 2 ans et des taux importants (40-50%) jusqu'à 4 et 5 ans après la vaccination. Les concentrations d'IgG sériques étaient plus élevées après la vaccination qu'après l'infection naturelle. Les réponses des ASC en IgA anti-LPS ont été importantes (3311 pour le conjugué *S. sonnei* et 693 pour le conjugué *S. flexneri*). Le conjugué *S. sonnei* a montré qu'il avait une bonne efficacité protectrice. Ces vaccins sont commodes à utiliser sur le terrain.

### Autres stratégies faisant appel à des vaccins inactivés

Un vaccin inactivé à germes entiers composé de *S. sonnei* cultivé avec du déoxycholate pour accroître les protéines de surface et traité par le formol a été mis au point. Des groupes de volontaires ont reçu 3 ou 5 doses orales de ce vaccin contenant  $10^{10}$  cellules inactivées ou un placebo. Les deux schémas vaccinaux ont été bien tolérés, sans fièvre ni symptômes gastro-intestinaux. Des réponses en IgG ou IgA sériques à ce vaccin inactivé ont été observées chez 86 % des vaccinés, au LPS chez 57% et à l'*IpaC* chez 61%. On a enregistré des réponses en IgA fécales à ces 3 antigènes chez 5 sujets sur 5, 3 sujets sur 5 et 3 sujets sur 5, respectivement. Un vaccin intranasal à base de protéosomes, le *S. flexneri* 2a LPS, a été testé. Les personnes vaccinées en ont reçu 2 doses contenant 1 mg de LPS réalisant un complexe avec des protéines de la membrane externe de *Neisseria meningitidis*. Ce vaccin a été bien toléré, avec uniquement des réactions bénignes à type de congestion nasale et de rhinorrhée survenant chez les personnes vaccinées. Les augmentations d'IgG et d'IgA sériques anti-LPS de *S. flexneri* ont été plus importantes chez les personnes vaccinées que chez celles ayant reçu le placebo. Les pics d'IgA et d'IgG anti-LPS sécrétoires ont été de 17,6 et de 10,6 chez les vaccinés et de 0,5 et 0,3 chez les personnes ayant reçu un placebo. Quatre à neuf semaines après la vaccination, les sujets ont reçu une inoculation d'épreuve contenant 500 UFC de *S. flexneri* 2a. L'efficacité protectrice du vaccin contre la diarrhée, la dysenterie ou la fièvre a été de 36%.

### Etat d'avancement des vaccins anti-*Shigella* préparés à partir de ribosomes

Le procédé de mise au point du vaccin anti-*Shigella* préparé à partir de ribosomes a été présenté. Les ribosomes purifiés des bactéries possèdent un antigène O lié par une liaison covalente à leur surface. Ces antigènes O fixés aux ribosomes peuvent rendre dépendante une réponse indépendante des lymphocytes T. La vaccination par ces vaccins préparés à partir de ribosomes induit une immunité muqueuse après administration parentérale. Une méthode de production de ce vaccin pour voie parentérale a été mise au point par l'*International Vaccine Institute* et elle peut être adaptée à la fabrication à grande échelle. La plupart des fabricants des pays en dévelop-

manufacturers would have the capacity to produce the conjugate vaccine, and production costs are low. Further work to improve purity may be required; lot-release criteria need to be further developed.

## Recommendations

Specific recommendations were addressed in relation to 3 major topics, including epidemiology, vaccine development and basic research:

- To focus on studies of burden of disease in areas including sub-Saharan, Africa, south Asia (India) and western hemisphere hotspots (Haiti). Two types of disease burden studies are recommended: (i) laboratory-based surveillance in areas with a known catchment area, to estimate the population-based burden of shigellosis by serotype and (ii) hospital-based case-control studies, to measure the etiology of severe diarrhoea in regions of interest. Temporal variations should be checked with shigellosis and *Shigella* serotypes.
- To support the development of different vaccine approaches. Parallel development of monovalent *S. dysenteriae* 1 and the multivalent approach is recommended. Development of *S. flexneri* including serotypes 2a, 3a and 6 should be encouraged. To continue the volunteer challenge model, which plays a useful role in guiding and expediting *Shigella* vaccine development.
- To encourage basic research on live and subunit vaccine candidates. Firstly, to support the development of a single vaccine for use in people from both industrialized and endemic areas.
- To increase knowledge on pathogenesis and immune responses to *Shigella*. Consideration should also be given to establishing consensus for reactogenicity threshold levels. Secondly, to encourage research to gain information that would be helpful to move this strategy forward, including: (i) a better understanding of the mechanisms of intestinal colonization by the bacteria; (ii) a better understanding of innate immunity and how it affects the adaptive response and mechanisms leading to inflammation underlying reactogenicity; (iii) a better understanding of the immunological basis of adaptive protection against *Shigella* infection both in animal models and in humans (both patients and vaccinees). Thirdly, to recommend basic research into how *Shigella* affects immune responses would allow improved vaccine design. A major issue is understanding the alteration of T-cell responses by *Shigella* to allow identification of factor(s) responsible and subsequent modification of vaccines accordingly. Research is required for the identification of additional immune parameters, including cellular immunity, of importance for protection in addition to antibodies (e.g. cell mediated immunity and innate immunity). Standardization of the current ELISA and ASC assays should be encouraged. ■

pement auraient les moyens de produire ce vaccin conjugué dont les coûts de production sont faibles. Des travaux complémentaires pour améliorer la pureté du vaccin peuvent être nécessaires ; et il convient de mieux définir les critères de mise en circulation des lots.

## Recommandations

Des recommandations particulières ont été formulées concernant 3 sujets principaux, à savoir l'épidémiologie, la mise au point des vaccins et la recherche fondamentale:

- Se concentrer sur les études de la charge de morbidité dans les régions suivantes: Afrique subsaharienne, Asie du Sud (Inde) et zones très touchées des Amériques (Haïti). Deux types d'études de la charge de morbidité sont recommandées: i) une surveillance au laboratoire dans les régions dont la zone desservie est connue, afin d'estimer le poids de la shigellose dans la population par sérotype ; et ii) des études cas-témoins à l'hôpital afin de mesurer l'étiologie de la diarrhée grave dans les régions concernées. On vérifiera comment la shigellose et les sérotypes de *Shigella* varient dans le temps.
- Soutenir la mise au point des différentes approches vaccinales. Il est recommandé de développer parallèlement le vaccin monovalent *S. dysenteriae* 1 et le vaccin multivalent. La mise au point du vaccin contre les sérotypes 2a, 3a et 6 de *S. flexneri* doit être encouragée. Poursuivre le modèle d'inoculation d'épreuve à des volontaires, qui joue un rôle utile pour orienter et accélérer la mise au point d'un vaccin anti-*Shigella*.
- Encourager la recherche fondamentale sur les vaccins candidats vivants et sous-unités. Tout d'abord, appuyer la mise au point d'un vaccin unique à utiliser aussi bien dans les populations des pays industrialisés que dans celles des régions d'endémie.
- Accroître les connaissances relatives à la pathogénèse et aux réponses immunitaires contre *Shigella*. On s'attachera également à parvenir à un consensus sur les seuils de réactogénicité. Deuxièmement, encourager la recherche visant à obtenir des informations utiles pour faire avancer cette stratégie à savoir: i) une meilleure compréhension des mécanismes de la colonisation de l'intestin par la bactérie ; ii) une meilleure compréhension de la nature de l'immunité innée et de la manière dont elle intervient dans la réponse adaptative et les mécanismes conduisant à l'inflammation sous-jacente à la réactogénicité; iii) une meilleure compréhension des bases immunologiques de la protection adaptative contre les infections à *Shigella* dans les modèles animaux et chez l'homme (malades et sujets vaccinés). Troisièmement, recommander des recherches fondamentales portant sur la façon dont *Shigella* intervient dans les réponses immunitaires, qui permettraient de concevoir un vaccin amélioré. Il est important de comprendre comment les shigelles altèrent les réponses des lymphocytes T pour pouvoir identifier le(s) facteur(s) responsable(s) et modifier ensuite les vaccins en conséquence. Des recherches sont nécessaires pour identifier des paramètres immunitaires supplémentaires, notamment concernant l'immunité cellulaire, importants pour la protection venant s'ajouter à celle des anticorps (par exemple immunité à médiation cellulaire et immunité innée). La normalisation des tests ELISA et du dosage des anticorps sérotoires doit être encouragée. ■

## Development and evaluation of new diagnostic tests for human African trypanosomiasis

The Foundation for Innovative New Diagnostics (FIND) and WHO, with a grant from the Bill & Melinda Gates Foundation, announced on 6 February 2006 that they will begin work on the development and evaluation of new diagnostic tests for human African trypanosomiasis (HAT), also known as sleeping sickness.

HAT, a major public health threat in sub-Saharan Africa, spreads among people bitten by the tsetse fly and is fatal unless treated. Because early-stage infection produces few symptoms, it is thought that only 10% of patients with the disease are accurately diagnosed. FIND and WHO will collaborate in seeking to identify, test and implement diagnostics that will increase the likelihood of early detection of HAT and the opportunity for treatment.

The spread of HAT has reached epidemic proportions in regions of Africa. There is clearly a great need for a simple, accurate and cost-effective way to diagnose the disease so that it can be better treated and controlled. FIND is committed to identifying and implementing diagnostics for infectious diseases and looks forward to securing partnerships and initiating field testing.

Existing diagnostics for sleeping sickness are difficult to implement in remote, impoverished settings. The WHO Department of Control of Neglected Tropical Diseases looks forward to working with FIND to advance new diagnostic tests that could revolutionize HAT control.

According to the Gates Foundation's Global Health Programme, developing point-of-care tests to direct sleeping sickness treatment will greatly simplify patient care, allowing for early case detection, simpler and safer treatment and higher cure rates that will improve disease management and could lead to the elimination of the disease as a public health problem.

Currently, diagnosis of HAT is made by serological examinations followed by microscopy, which is laborious, insensitive and costly. FIND's and WHO's efforts will therefore be focused on developing tools that will be simple to use and effective in the remote field conditions that exist where HAT is most prevalent. In addition to developing appropriate diagnostic technologies, the objectives of the programme include establishing field research sites for clinical studies and evaluating prototype products.

### About HAT<sup>1</sup>

HAT, or sleeping sickness, is a major threat for public health in sub-Saharan Africa, with 100% fatality in untreated cases. The initial symptoms include a low-grade fever, pain in the joints and itchy skin. After a period of time, the parasites carrying the disease enter the brain, often resulting in hallucinations and unpredictable, disruptive behaviour. At this later stage, the infected individual experiences excruciating

## Mise au point et évaluation de nouveaux tests de diagnostic de la trypanosomiase humaine africaine

La Fondation pour l'Innovation en matière de Nouveaux Diagnostics (FIND) et l'Organisation mondiale de la Santé (OMS), dotées d'une subvention de la Fondation Bill et Melinda Gates, ont annoncé le 6 février 2006 qu'elles allaient commencer à travailler sur la mise au point et l'évaluation de nouveaux tests de diagnostic de la trypanosomiase humaine africaine, également appelée maladie du sommeil.

La maladie du sommeil, risque majeur de santé publique en Afrique subsaharienne, se transmet à l'homme par la piqûre de la mouche tsé-tsé et elle est mortelle en l'absence de traitement. Comme l'infection ne produit que peu de symptômes à un stade précoce, on pense que seulement 10% des patients sont correctement diagnostiqués. FIND et l'OMS vont collaborer pour trouver, tester et mettre en place des diagnostics qui augmenteront la probabilité d'un dépistage précoce et les possibilités de traitement.

Dans certaines régions d'Afrique, la trypanosomiase humaine africaine a atteint le seuil épidémique. Il est clair qu'une méthode simple, précise, efficace et bon marché est nécessaire afin de diagnostiquer cette maladie et de pouvoir mieux la traiter et la combattre. FIND travaille à la découverte et à la mise en place des diagnostics des maladies infectieuses et elle compte former des partenariats et commencer les essais sur le terrain.

Les diagnostics actuels étant difficiles à mettre en œuvre dans les localités isolées et pauvres, le département OMS de Lutte contre les maladies tropicales négligées compte sur sa collaboration avec FIND pour progresser dans la mise en place de nouveaux tests de diagnostic qui révolutionneront la lutte contre la trypanosomiase humaine africaine.

Selon le Programme mondial de la Santé de la Fondation Gates, la mise au point de tests à faire sur place pour orienter le traitement de la maladie du sommeil simplifiera beaucoup les soins, permettra une détection précoce des cas, facilitera les traitements, les rendra plus sûrs et aboutira à une augmentation des taux de guérison, ce qui signifie une meilleure prise en charge de la maladie qui pourrait conduire à son élimination des problèmes de santé publique.

On pose actuellement le diagnostic de la maladie du sommeil par des analyses sérologiques suivies d'un examen microscopique. Cette méthode est laborieuse, coûteuse et manque de sensibilité. FIND et l'OMS concentreront leur action sur la mise au point d'outils simples d'emploi et efficaces dans les conditions régnant sur le terrain, là où la maladie a la plus forte prévalence. En plus de mettre au point des technologies adaptées, le programme a aussi pour objectif d'établir sur le terrain des sites de recherche pour les études cliniques et l'évaluation de produits prototypes.

### La trypanosomiase humaine africaine<sup>1</sup>

Avec un taux de létalité de 100% en l'absence de traitement, la trypanosomiase humaine africaine (ou maladie du sommeil), constitue un risque majeur de santé publique en Afrique subsaharienne. Les symptômes initiaux comprennent un fébricule, des arthralgies et un prurit. Au bout d'un certain temps, les parasites responsables de la maladie pénètrent dans le cerveau, ce qui entraîne souvent des hallucinations et un comportement imprévi-

<sup>1</sup> See [http://www.who.int/topics/trypanosomiasis\\_african/en/index.html](http://www.who.int/topics/trypanosomiasis_african/en/index.html)

<sup>1</sup> Voir [http://www.who.int/topics/trypanosomiasis\\_african/fr/index.html](http://www.who.int/topics/trypanosomiasis_african/fr/index.html)

ating pain and eventually lapses into a coma before dying. The disease is endemic in 36 African countries. Considering the achievements made in control of the disease – leading to a reduction in the number of new cases reported – it is now considered that the elimination of the disease as a public health problem is feasible. It is estimated that around 70 000 people are currently infected.

### About FIND<sup>2</sup>

FIND was launched at the World Health Assembly in May 2003 as a non-profit Swiss foundation based in Geneva. Its purpose is to support and promote the health of people in developing countries by sponsoring the development and introduction of new but affordable diagnostic products for infectious diseases. FIND currently has established collaborations with a number of leading public and private organizations for the development of diagnostics for tuberculosis.

### About the Bill & Melinda Gates Foundation<sup>3</sup>

The Bill & Melinda Gates Foundation works to promote greater equity in 4 areas: global health, education, public libraries and support for at-risk families in Washington State and Oregon (USA). The Seattle-based foundation joins local, national and international partners to ensure that advances in these areas reach those who need them most. To date, the foundation has committed more than US\$ 3.6 billion in global health grants to organizations worldwide. ■

<sup>2</sup> See <http://www.finddiagnostics.org>

<sup>3</sup> See <http://www.gatesfoundation.org/default.htm>

sible, asocial. A ce stade tardif, le sujet éprouve des douleurs insupportables et finit par sombrer dans le coma avant de mourir. La maladie est endémique dans 36 pays africains. Compte tenu des progrès de la lutte, qui ont abouti à une diminution du nombre des nouveaux cas notifiés, on considère désormais que l'élimination de la maladie en tant que problème de santé publique est faisable. On estime qu'il y a actuellement 70 000 personnes infectées.

### FIND<sup>2</sup>

FIND a été lancée lors de l'Assemblée mondiale de la Santé de mai 2003 et il s'agit d'une fondation suisse à but non lucratif basée à Genève. Elle a pour objectif de soutenir et de promouvoir la santé des populations dans les pays en développement en parrainant la mise au point et l'introduction de nouveaux produits de diagnostic à faible coût pour les maladies infectieuses. Cette fondation a établi des collaborations avec un certain nombre d'organisations publiques et privées de premier plan pour la mise au point de diagnostics de la tuberculose.

### Fondation Bill et Melinda Gates<sup>3</sup>

La Fondation Bill et Melinda Gates travaille à l'amélioration de l'équité dans 4 grands domaines: la santé mondiale, l'éducation, les bibliothèques publiques et l'aide aux familles à risque dans les états de Washington et de l'Oregon (Etats-Unis). Cette fondation basée à Seattle unit des partenaires locaux, nationaux et internationaux pour veiller à ce que les progrès dans ces domaines profitent à ceux qui en ont le plus besoin. A ce jour, la Fondation a engagé plus de US\$ 3,6 milliards dans des subventions pour la santé consenties à des organisations dans le monde entier. ■

<sup>2</sup> Voir <http://www.finddiagnostics.org/>

<sup>3</sup> Voir <http://www.gatesfoundation.org/default.htm>

#### How to obtain the WER through the Internet

- (1) WHO WWW SERVER: Use WWW navigation software to connect to the WER pages at the following address: <http://www.who.int/wer/>
- (2) An e-mail subscription service exists, which provides by electronic mail the table of contents of the WER, together with other short epidemiological bulletins. To subscribe, send a message to [listserv@who.int](mailto:listserv@who.int). The subject field should be left blank and the body of the message should contain only the line: subscribe wer-reh. A request for confirmation will be sent in reply.

#### Comment accéder au REH sur Internet

- 1) Par le serveur Web de l'OMS: A l'aide de votre logiciel de navigation WWW, connectez-vous à la page d'accueil du REH à l'adresse suivante: <http://www.who.int/wer/>
- 2) Il existe également un service d'abonnement permettant de recevoir chaque semaine par courrier électronique la table des matières du REH ainsi que d'autres bulletins épidémiologiques. Pour vous abonner, merci d'envoyer un message à [listserv@who.int](mailto:listserv@who.int) en laissant vide le champ du sujet. Le texte lui-même ne devra contenir que la phrase suivante: subscribe wer-reh.

## INTERNATIONAL HEALTH REGULATIONS / RÈGLEMENT SANITAIRE INTERNATIONAL

### Notifications of diseases received from 3 to 9 February 2006 / Notifications de maladies reçues du 3 au 9 février 2006

#### Cholera / Choléra

Africa / Afrique		Cases / Deaths Cas / Décès	Zimbabwe		Cases / Deaths Cas / Décès	Asia / Asie		Cases / Deaths Cas / Décès			
Malawi	02-23.I	446	9	Zimbabwe	05-16.I	71	3	Japan / Japon	01-07.I	2 (i)	0
United Republic of Tanzania/ République-Unie de Tanzanie	01-29.I	736	14								

(i) = Imported cases. – Cas importés.

WWW access • <http://www.who.int/wer>

E-mail • send message **subscribe wer-reh** to [listserv@who.int](mailto:listserv@who.int)

Fax: +41-(0)22 791 48 21/791 42 85

Contact: [wantzc@who.int](mailto:wantzc@who.int) / [wer@who.int](mailto:wer@who.int)

Accès WWW • <http://www.who.int/wer>

Courrier électronique • envoyer message **subscribe wer-reh** à [listserv@who.int](mailto:listserv@who.int)

Fax: +41-(0)22 791 48 21/791 42 85

Contact: [wantzc@who.int](mailto:wantzc@who.int) / [wer@who.int](mailto:wer@who.int)