



## Contents

- 89 Outbreak news
- Ebola haemorrhagic fever, Uganda – end of the outbreak
  - Meningococcal disease in the African meningitis belt
- 92 Enterotoxigenic *Escherichia coli*: advances in technical and laboratory aspects of research and development of vaccines
- 96 WHO web sites on infectious diseases

## Sommaire

- 89 Le point sur les épidémies
- Fièvre hémorragique à virus Ebola – fin de la flambée en Ouganda
  - Méningococcie dans la ceinture de la méningite en Afrique
- 92 *Escherichia coli* entérotoxigène: progrès techniques et de laboratoire dans la recherche et le développement des vaccins
- 96 Sites internet de l'OMS sur les maladies infectieuses

WORLD HEALTH  
ORGANIZATION  
Geneva

ORGANISATION MONDIALE  
DE LA SANTÉ  
Genève

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

3.2008  
ISSN 0049-8114  
Printed in Switzerland

## ★ OUTBREAK NEWS

### Ebola haemorrhagic fever, Uganda – end of the outbreak

On 20 February 2008, the Ministry of Health of Uganda declared the end of the outbreak of Ebola haemorrhagic fever in Bundibugyo District. The last person to be infected by the virus was discharged on 8th January 2008. This period of time is more than double the maximum incubation period (42 days) for Ebola.

The response to this outbreak was coordinated by a national task force comprising staff members from the Ministry of Health, WHO and other international partners in the field, including experts from Médecins Sans Frontières–Suisse, the African Field Epidemiology Network, the International Federation of Red Cross and Red Crescent Societies (IFRC), the US Centers for Disease Control and Prevention (CDC), UNICEF and the World Food Programme. International technical and operational coordination was supported through the Global Outbreak Alert and Response Network, and networks of regional experts and technical institutions.

The Ugandan Government, WHO and other partners established an active surveillance system to detect cases and follow up their contacts. Mobile district teams deployed to the field investigated rumours, obtained clinical specimens for laboratory tests, hospitalized patients and monitored their contacts. Mobile teams, including trained Red Cross volunteers, followed up a cumulative total of 804 contacts daily. Isolation wards were established at hospitals in Bundibugyo and Kikyoo, and training was provided for health-care workers and auxiliary staff in appropriate triage and infection control measures.

## ★ LE POINT SUR LES ÉPIDÉMIES

### Fièvre hémorragique à virus Ebola – fin de la flambée en Ouganda

Le 20 février 2008, le Ministère ougandais de la Santé a déclaré terminée la flambée de fièvre due au virus Ebola dans le district de Bundibugyo. La dernière personne infectée par le virus a pu quitter l'hôpital le 8 janvier 2008, plus du double de la période d'incubation maximale (42 jours) s'étant écoulée.

La riposte à cette flambée a été coordonnée par un groupe spécial national comprenant du personnel du Ministère de la Santé, de l'OMS et d'autres partenaires internationaux présents sur le terrain, notamment des experts de Médecins Sans Frontières–Suisse, du Réseau africain d'épidémiologie de terrain, de la Fédération internationale des Sociétés de la Croix-Rouge et du Croissant-Rouge, des Centers for Disease Control and Prevention (CDC) (Etats-Unis), de l'UNICEF et du Programme alimentaire mondial. La coordination technique et opérationnelle internationale a bénéficié d'un appui du Réseau d'alerte et d'action en cas d'épidémie ainsi que de réseaux d'experts et d'institutions techniques régionaux.

Le Gouvernement ougandais, l'OMS et les autres partenaires ont mis sur pied un système de surveillance actif pour le dépistage des cas et le suivi des contacts. Des équipes mobiles de district ont été envoyées sur le terrain pour enquêter sur les rumeurs, obtenir des échantillons à soumettre à des tests au laboratoire, hospitaliser les patients et surveiller les contacts. Les équipes mobiles qui comprenaient des volontaires de la Croix-Rouge ont suivi quotidiennement 804 contacts au total. Des locaux d'isolement ont été prévus dans les hôpitaux de Bundibugyo et Kikyoo et les soignants et le personnel auxiliaire ont reçu une formation aux mesures appropriées de tri

A cumulative total of 75 patients were treated in both isolation facilities.

Laboratory experts from CDC provided support to the Uganda Virus Research Institute (UVRI) in diagnosis and analysis of samples. Specimens from suspected cases were collected and referred for laboratory confirmation to a joint CDC and UVRI team in Entebbe, Uganda

Laboratory analysis undertaken at CDC confirmed that the virus associated with the outbreak is different from the 3 African Ebola species (Côte d'Ivoire, Sudan and Zaïre) and should be considered as a new species of Ebola virus.

The Ministry of Health and IFRC conducted intensive social mobilization activities, including the use of radio broadcasts and mobile film vans to reach at-risk communities. Fact sheets, brochures and posters were also distributed. ■

## Meningococcal disease in the African meningitis belt

As of 22 February 2008, levels of meningitis activity remained low in the African meningitis belt, an area of sub-Saharan Africa that stretches from Senegal in the west to Ethiopia in the east.

The WHO Multi-Disease Surveillance Centre in Ouagadougou (MDSC–Burkina Faso) is monitoring the meningitis situation in this area throughout the epidemic season. The following 13 countries are under enhanced seasonal surveillance: Benin, Burkina Faso, Cameroon, Central African Republic, Chad, Côte d'Ivoire, Democratic Republic of the Congo, Ethiopia, Ghana, Mali, Niger, Nigeria and Togo.

According to preliminary reports from these countries, a total of 2312 cases (including 324 deaths) occurred between 1 January and 10 February. These figures are 29% lower than those reported in the same 6-week period in 2007 (3274 cases, including 413 deaths), indicating lower levels of meningitis activity to date in 2008.

Among countries reporting cases to MDSC–Burkina Faso, the Central African Republic and the Democratic Republic of the Congo have been reporting outbreaks since the beginning of the season. Other countries reporting meningitis activity without reaching the epidemic threshold at district level include Benin, Côte d'Ivoire, Ethiopia, Ghana, Mali, Niger, Nigeria and Togo. Cameroon and Chad have not reported any cases.

Burkina Faso is the most affected country, with a total of 1422 cases, including 204 deaths (case-fatality rate, 4.3%) reported between 1 January and 10 February. These cases represent >61% of all cases reported to MDSC–Burkina Faso in 2008 (compared with 64% for the same period in 2007).

*Neisseria meningitidis* A was identified as the causative agent in Mangodara and Sapouy districts. Vaccination targeting the population aged between 2 and 29 years was carried out in these districts as well as in Gaoua. A cross-

et de lutte contre la maladie. Au total, 75 patients ont été soignés en isolement dans les deux établissements.

Des experts de laboratoire des CDC ont apporté leur concours à l'*Uganda Virus Research Institute* (UVRI) pour le diagnostic et l'analyse des prélèvements. Les échantillons provenant de cas présumés ont été recueillis et acheminés pour confirmation au laboratoire à une équipe commune CDC-UVRI à Entebbe, Ouganda.

L'analyse au laboratoire effectuée par les CDC a confirmé que le virus associé à la flambée était différent des 3 espèces africaines connues de virus Ebola (de la Côte d'Ivoire, du Soudan et du Zaïre) et devait être considéré comme une nouvelle espèce.

Le Ministère de la Santé et la Fédération des Sociétés de la Croix-Rouge et du Croissant-Rouge ont mené des activités intensives de mobilisation sociale, notamment au moyen d'émissions radiodiffusées et de camionnettes équipées de matériel cinématographique, pour sensibiliser les communautés à risque. Des aide-mémoire, des dépliants et des affiches ont aussi été distribués. ■

## Méningococcie dans la ceinture de la méningite en Afrique

Au 22 février 2008, la méningite présentait une faible activité dans la ceinture de la méningite en Afrique, une région de l'Afrique subsaharienne qui s'étend de l'ouest du Sénégal à l'est de l'Éthiopie.

Le Centre de Surveillance Pluripathologies (CSPP) de l'OMS à Ouagadougou (Burkina Faso) surveille la situation de la méningite en Afrique pendant toute la saison épidémique et en particulier dans 13 pays faisant l'objet d'une surveillance saisonnière renforcée: le Bénin, le Burkina Faso, le Cameroun, la Côte d'Ivoire, l'Éthiopie, le Ghana, le Mali, le Niger, le Nigéria, la République centrafricaine, la République démocratique du Congo, le Tchad et le Togo.

Selon les rapports préliminaires de ces pays, 2312 cas au total (dont 324 mortels) se sont produits entre le 1<sup>er</sup> janvier et le 10 février 2008. Ces chiffres sont de 29% inférieurs à ceux de la période correspondante de 6 semaines en 2007 (3274 cas, dont 413 mortels), ce qui indique, jusqu'à présent, une activité plus faible de la méningite en 2008.

Parmi les pays ayant notifié des cas au CSPP du Burkina Faso, la République centrafricaine et la République démocratique du Congo ont signalé des flambées depuis le début de la saison. D'autres pays signalent une activité de la méningite, sans atteindre le seuil épidémique au niveau des districts: le Bénin, la Côte d'Ivoire, l'Éthiopie, le Ghana, le Mali, le Niger, le Nigéria et le Togo. Le Cameroun et le Tchad n'ont pas notifié de cas.

Le Burkina Faso est le pays le plus affecté, avec un total de 1422 cas, dont 204 mortels (taux de létalité de 14,3 %), notifiés du 1<sup>er</sup> janvier au 10 février. Cela représente plus de 61% de l'ensemble des cas notifiés au CSPP en 2008 (contre 64% pour la même période en 2007).

On a identifié *Neisseria meningitidis* A comme étant l'agent causal dans les districts de Mangodara et Sapouy. Une campagne de vaccination de la population âgée de 2 à 29 ans a été mise en œuvre dans ces districts, ainsi qu'à Gaoua. Une évaluation

border assessment of the situation is being carried out in Côte d'Ivoire, in the area bordering Mangodara District. Although the epidemiological trend in Burkina Faso is similar to that observed last year, a higher number of cases were reported during the first 6 weeks of 2007, and more districts reached the epidemic threshold (8, compared with 2 in 2008).

The Ministry of Health in the Central African Republic is launching reactive mass vaccination campaigns in some of the communes that have reached the epidemic threshold in the northern prefecture of Nana-Gribizi. A total of 45 cases, including 5 deaths (case-fatality rate, 11.1%) had been reported by the end of week 6, with *N. meningitidis* A identified as the responsible pathogen. International partners including WHO and the International Coordination Group (ICG) are providing support for the vaccination campaigns.

In the Democratic Republic of the Congo,<sup>1</sup> a situation assessment is being carried out in Aru District, which borders Arua District in Uganda, where 167 cases, including 17 deaths (case-fatality rate, 10.2%), were reported between 1 January and 10 February 2008. The most affected areas include Ariwara, Aungba and Laybo health zones. Aru District also experienced an outbreak in early 2007.

### Situation in other countries of the meningitis belt

*Southern Sudan.* A situation assessment is being carried out in areas of Southern Sudan where suspected cases were reported, including Awerial, Bor, Jur River and Torit counties.

*Uganda.* Between 13 December 2007 and 28 January 2008, an outbreak occurred in the Arua District of Uganda in West Nile Region, with a total of 380 cases, including 17 deaths (case-fatality rate, 4.5%) reported. A sharp decline in the weekly case count was observed following a mass vaccination campaign that was implemented during week 4.

*Eritrea, the Gambia, Guinea, Kenya, Mauritania and Senegal.* No suspected cases have been reported from these other countries within the meningitis belt.

### Vaccine availability through the ICG

To date, in 2008, the ICG has provided 40 000 vaccine doses, injection material and safety disposal boxes for vaccination campaigns in the Central African Republic.

The current ICG stockpile, available for outbreak response during the current meningitis season, is 7 million doses of bivalent polysaccharide A/C vaccine and 3.3 million doses of trivalent polysaccharide vaccine A/C/W135.<sup>2</sup> ■

transfrontalière de la situation est en cours en Côte d'Ivoire, dans la zone voisine du district de Mangodara. Bien que la tendance épidémiologique au Burkina Faso soit la même que celle observée l'année dernière, on a constaté au cours des 6 premières semaines de l'année 2007 un plus grand nombre de cas notifiés et davantage de districts dépassant le seuil épidémique (8, au lieu de 2 en 2008).

Le Ministère de la Santé de la République centrafricaine riposte avec une campagne de vaccination de masse dans certaines communes qui ont atteint le seuil épidémique dans la préfecture de Nana-Gribizi, au nord du pays. Au total 45 cas, dont 5 mortels (taux de létalité de 11,1 %) ont été signalés à la fin de la semaine 6 et *N. meningitidis* A a été identifiée comme étant l'agent pathogène. L'OMS et le Groupe international de coordination (GIC) font partie des partenaires internationaux fournissant une assistance pour les campagnes de vaccination.

En République démocratique du Congo,<sup>1</sup> la situation est en cours d'évaluation dans le district d'Aru, limitrophe de celui d'Arua en Ouganda, où 167 cas, dont 17 mortels (taux de létalité de 10,2%), ont été signalés entre le 1er janvier et le 10 février 2008. Les zones les plus affectées sont celles de Ariwara, Aungba et Laybo. Le district d'Aru avait également connu une flambée au début de 2007.

### Situation dans d'autres pays de la ceinture de la méningite

*Sud-Soudan.* La situation est en cours d'évaluation dans les zones où des cas présumés ont été signalés, parmi lesquelles les comtés d'Awerial, Bor, Jur River et Torit.

*Ouganda.* Entre le 13 décembre 2007 et le 28 janvier 2008, le district d'Arua (région du Nil occidental) a connu une flambée de méningite, avec un total de 380 cas signalés, dont 17 mortels (taux de létalité de 4,5%). On a observé une forte baisse du nombre hebdomadaire des cas suite à la campagne de vaccination de masse, mise en œuvre lors de la semaine 4.

*Érythrée, Gambie, Guinée, Kenya, Mauritanie et Sénégal.* Aucun cas suspect n'a été signalé dans les autres pays de la ceinture de la méningite.

### Disponibilité du vaccin par le GIC

A ce jour, en 2008, le GIC a fourni aux campagnes de vaccination en République centrafricaine 40 000 doses de vaccin, du matériel d'injection et des conteneurs de sécurité pour l'élimination du matériel.

Les réserves actuelles du GIC, disponibles pour intervenir en cas de flambées au cours de cette saison, se montent à 7 millions de doses de vaccin polysaccharidique bivalent A/C et 3,3 millions de doses de vaccin polysaccharidique trivalent A/C/W135.<sup>2</sup> ■

<sup>1</sup> Thresholds are not applicable to this country on the border with the African meningitis belt.

<sup>2</sup> Further information on requests for vaccines through the ICG and regional meningitis surveillance is available at <http://www.who.int/csr/disease/meningococcal/icg/en/index.html> and <http://www.who.int/csr/disease/meningococcal/epidemiological/en/index.html>.

<sup>1</sup> Les seuils ne sont pas applicables dans ce pays limitrophe de la ceinture de la méningite.

<sup>2</sup> Pour de plus amples informations concernant les demandes pour se procurer des vaccins par l'intermédiaire du GIC et sur la surveillance régionale de la méningite, merci de consulter les liens suivants: <http://www.who.int/csr/disease/meningococcal/icg/en/index.html> et <http://www.who.int/csr/disease/meningococcal/epidemiological/en/index.html> (en anglais seulement).

## Enterotoxigenic *Escherichia coli*: advances in technical and laboratory aspects of research and development of vaccines

Enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC) is one of the most common causes of acute infantile gastroenteritis globally and is associated with high infant morbidity and mortality in developing countries. ETEC is also a major cause of travellers' diarrhoea. Anti-ETEC vaccines are under development for the traveller's market but have proved impotent in infants in regions where the disease is endemic. WHO has prioritized research towards developing safe and effective vaccines for children in developing countries against ETEC as well as other diarrhoeal agents.<sup>1,2</sup>

In November 2006, WHO organized an international consultative meeting to examine the most recent epidemiological data from the field, identify gaps in the laboratory methods for strain identification and characterization of the potential protective antigens, and to examine the immune correlates of protection in natural history studies and challenge studies.

### Natural history and epidemiology of ETEC

Recent studies of the epidemiology and natural history of ETEC in young children in Bangladesh, Egypt, Guinea-Bissau and Guatemala indicate a complex epidemiology of the disease and the strains circulating, and in the potential virulence characteristics of the bacteria. Birth cohort studies in which children were followed until 3 years of age reported incidence rates of on average 1 episode per person-year. A large proportion of children were affected by 2 years of age. ETEC shows a seasonal periodicity that increases substantially in the hot and warmer periods of the year. Although commonly considered a cause of self-limiting mild diarrhoea, severe dehydrating illness was observed in young children. In Guatemala, severe diarrhoeal disease in young children was associated more commonly with ETEC than with rotavirus.

The prevalence of the enterotoxin types (ST or LT or ST/LT) produced by ETEC varies from one region to another, and epidemiological studies have demonstrated the relative importance of strains expressing the different toxin phenotypes. In Bangladesh and Thailand, the ST-only phenotype was found to be the most common, while in Guatemala the LT-only phenotype predominated. In Egypt, the LT phenotype was as common as the ST types in ETEC isolated from hospitalized patients. In Guinea-Bissau, the ST-ETECs were shown to be most pathogenic in models designed to estimate odds-ratios for estimating the virulence of strains and their potential capacity to cause disease.

<sup>1</sup> See No. 11, 2006, pp. 97–104.

<sup>2</sup> See *Vaccine*, 2006, 25:2545–2566.

## *Escherichia coli* entérotoxigène: progrès techniques et de laboratoire dans la recherche et le développement des vaccins

*Escherichia coli* entérotoxigène (ETEC) est l'une des causes les plus communes de gastroentérite aiguë chez l'enfant dans le monde et est associé à une morbidité et une mortalité infantiles élevées dans les pays en développement. ETEC est également une cause importante de diarrhée du voyageur. Des vaccins anti-ETEC sont en cours de mise au point pour le marché des voyageurs, mais se sont avérés inactifs chez les nourrissons des régions où cette maladie est endémique. L'OMS a fait de la recherche visant à développer des vaccins sûrs et efficaces destinés aux enfants dans les pays en développement une priorité, qu'il s'agisse de vaccins contre ETEC ou contre d'autres germes responsables de maladies diarrhéiques.<sup>1,2</sup>

En novembre 2006, l'OMS a organisé une réunion consultative internationale afin d'examiner les données épidémiologiques les plus récentes provenant du terrain, de recenser les lacunes dans les méthodes de laboratoire utilisées pour l'identification des souches et la caractérisation des antigènes protecteurs potentiels, et enfin pour examiner les indicateurs immunitaires de la protection dans des études sur l'histoire naturelle de la maladie et des études d'inoculation d'épreuve.

### Histoire naturelle et épidémiologie des infections à ETEC

Les études récentes sur l'épidémiologie et l'histoire naturelle des infections à ETEC chez les jeunes enfants menées au Bangladesh, en Egypte, en Guinée-Bissau et au Guatemala indiquent une épidémiologie complexe de la maladie et des souches en circulation, complexité que l'on retrouve au niveau des caractéristiques potentielles de la virulence de ce bacille. Des études sur les cohortes de naissance dans lesquelles des enfants ont été suivis jusqu'à l'âge de 3 ans ont rapporté des taux d'incidence qui étaient en moyenne d'un épisode par personne-année. Une grande partie des enfants étaient atteints avant l'âge de 2 ans. Les infections à ETEC montrent une périodicité saisonnière et augmentent nettement au cours des périodes chaudes de l'année. Bien qu'elles soient communément considérées comme une cause de diarrhée bénigne spontanément résolutive, on a observé des cas graves accompagnés de déshydratation chez les jeunes enfants. Au Guatemala, chez les jeunes enfants, la maladie diarrhéique grave était plus souvent associée à ETEC qu'au rotavirus.

La prévalence des types d'entérotoxines (ST ou LT ou ST/LT) produits par ETEC varie d'une région à l'autre, et les études épidémiologiques ont mis en évidence l'importance relative des souches exprimant les différents phénotypes de toxines. Au Bangladesh et en Thaïlande, le phénotype ST-seule s'est avéré le plus courant, tandis qu'au Guatemala c'était le phénotype LT-seule qui prédominait. En Egypte, le phénotype LT était aussi fréquent que le type ST parmi les ETEC isolés chez des sujets hospitalisés. En Guinée-Bissau, on a montré que les ETEC-ST étaient très pathogènes chez les modèles conçus pour l'estimation des *odds ratio* servant à l'étude de la virulence des souches et de leur capacité potentielle à provoquer la maladie.

<sup>1</sup> Voir N° 11, 2006, pp. 97–104.

<sup>2</sup> Voir *Vaccine*, 2006, 25:2545–2566.

In general, ST-excreting strains are more common and associated with more severe disease. However, the great diversity of LT-ETEC strains could explain some of the complex epidemiology seen with LT-ETEC induced diarrhoea and provide information on the differing virulence of LT-producing strains from one location to another. As the relative expression of toxin types varies from one location to another, so does the expression of colonization factors (CFs) on ETEC strains. This is also related to the type of toxin expressed by the bacteria. ETEC isolated from symptomatic children was significantly more frequently CF-positive than ETEC isolated from healthy, asymptomatic children. Many LT-only ETEC is CF-negative. Of the CF-positive strains, the relative prevalence of the most common CF types is CFA/I, CS1-CS6, CS12, CS17, although these are expressed in varying frequencies in different locations.

A remaining challenge is therefore to determine the relative pathogenicity of different ETEC strains, which might be the target of a future ETEC vaccine. One method is to study the clonality of ETEC strains in different settings. These analyses, however, are difficult to interpret in situations where the ST-ETEC or the LT-ETEC may be the sole pathogen causing severe disease requiring hospitalization. Additional analyses with strains from different locations or populations may help explain this complex scenario in ETEC epidemiology. In addition, comparisons of the different types of LT and related immune responses in volunteers would be important in understanding the role of LT in the immune response and the capacity to protect on re-exposure. Finally, results from some of these studies suggest that environmental and host factors can induce genetic and phenotypic changes in expression of the ETEC strains, which is important to further evaluate and understand.

A recommendation for further research efforts in this field is to consider additional well-designed studies investigating various aspects of the complex epidemiology and characterization of ETEC strains, particularly in populations of developing countries.

### **Correlates of protection against ETEC**

The nature of the protective antigens of ETEC and the immune responses generated against them were considered from challenge studies conducted in adult volunteers and in limited vaccine studies, to elucidate a better understanding of protective responses. It was concluded that the major antigens of importance required to generate a protective immune response against ETEC diarrhoea are the colonization factors and LT. Other antigens considered included the O-somatic antigens, different outer membrane proteins and flagellar proteins. The role of ST as an important antigen remains unclear since the small ST peptide is not immunogenic and does not induce any immune responses during natural ETEC infections.

A Working Group on Protective Immune Responses has expanded on the need for appropriate immunological

En général, les souches excrétaient de la ST sont plus communes et associées à une maladie plus grave. Toutefois, la grande diversité des souches d'ETEC-LT pourrait expliquer en partie la complexité de l'épidémiologie observée dans les diarrhées provoquées par les ETEC-LT et fournir des informations sur la virulence variable des souches produisant de la LT, d'un endroit à l'autre. De même que l'expression relative des types de toxines varie selon l'endroit, l'expression des facteurs de colonisation (FC) varie selon les souches d'ETEC. Ce phénomène est également en rapport avec le type de toxine exprimé par les colibacilles. Les ETEC isolés chez des enfants symptomatiques étaient nettement plus fréquemment CF-positifs que ceux isolés chez des enfants bien portants asymptomatiques. De nombreux ETEC produisant de la LT-seule sont CF-négatifs. Parmi les souches CF-positives, la fréquence relative des types de CF les plus courants est la suivante: CFA/I, CS1-CS6, CS12, CS17, bien que ces derniers soient exprimés avec des fréquences variables dans les différents endroits.

Il reste par conséquent un problème, qui est celui de la détermination de la pathogénicité relative des différentes souches d'ETEC, qui pourrait être la cible d'un futur vaccin anti-ETEC. Une méthode consiste à étudier la possibilité de cloner les souches d'ETEC dans différentes situations. Ces analyses sont cependant difficiles à interpréter dans les situations où les ETEC-ST ou les ETEC-LT peuvent être les seuls germes pathogènes provoquant une maladie grave nécessitant l'hospitalisation. Des analyses supplémentaires sur des souches provenant de différents endroits ou de différentes populations pourraient aider à expliquer ce scénario complexe de l'épidémiologie des infections à ETEC. En outre, la comparaison des différents types de réponses immunitaires LT et connexes chez des volontaires serait importante pour comprendre le rôle de la LT dans la réponse immunitaire et la capacité à protéger lors d'une réexposition. Enfin, les résultats de certaines de ces études laissent à penser que des facteurs environnementaux et liés à l'hôte peuvent induire des modifications génétiques et phénotypiques dans l'expression des souches d'ETEC, qu'il est important d'évaluer plus avant et de mieux comprendre.

Une recommandation relative aux efforts de recherche supplémentaires à accomplir dans ce domaine consiste à envisager des études supplémentaires bien conçues sur divers aspects de l'épidémiologie complexe et de la caractérisation des souches d'ETEC, en particulier dans les populations des pays en développement.

### **Indicateurs de la protection contre ETEC**

La nature des antigènes protecteurs d'ETEC et les réponses immunitaires suscitées contre eux ont été étudiées à partir d'études d'inoculation d'épreuve conduites chez des volontaires adultes et d'études limitées sur des vaccins, afin de mieux comprendre les réponses protectrices. On en a conclu que les principaux antigènes nécessaires pour obtenir une réponse immunitaire protectrice contre la diarrhée à ETEC sont les facteurs de colonisation et la LT. Les autres antigènes étudiés comprenaient les antigènes somatiques O, différentes protéines de la membrane externe et protéines flagellaires. Le rôle de la ST comme antigène important reste mal compris puisque le petit peptide ST n'est pas immunogène et n'induit aucune réponse immunitaire lors des infections naturelles à ETEC.

Un groupe de travail sur les réponses immunitaires protectrices a exposé en détail la nécessité de disposer de dosages

assays for vaccine and natural history studies. ETEC is a non-invasive mucosal pathogen, and the local antibody response in the gut is believed to best reflect the protective immune response. The responses of IgA antibodies in intestinal fluid have therefore been considered a "gold standard" and have been measured in different mucosal tissues including extracts of stools, intestinal lavages and saponin-extracts of duodenal biopsies. Since these direct measurements of antibody responses are relatively non-sensitive and practically difficult to assess, correlates or alternate measurements have been sought.

Of these, the antibody secreting cell (ASC) response, which is a proxy indicator for the mucosal immune response, has been used in ETEC vaccine trials as well as for analysing responses to natural ETEC infections. The responses have been measured to specific CFs as well as to LT. Antibodies in lymphocyte supernatants (ALS) responses to measure a recent mucosal exposure to ETEC pathogens or to inactivated and live vaccine candidates have also been examined. Good agreement between the ASC and ALS assay responses to natural ETEC infections and to live oral ETEC vaccine candidates was demonstrated.

A correlation was identified between the magnitude of the serological responses and protection observed in volunteer studies. These serological responses were demonstrated against specific CFs and by serum IgA and IgG against the toxin. Although direct measurements of intestinal immune responses would be appropriate, the responses were less sensitive and difficult to adapt to field-based studies. A consensus was that to facilitate studies on immune responses, greater importance should be given to finding a correlate of protection. Such laboratory-based correlates may include the use of cell-based assays involving peripheral blood mononuclear cells, which transiently increase in the blood after a recent mucosal exposure to oral vaccines or to natural infection.

Additional efforts are needed to elucidate an understanding of the memory responses to ETEC infection, and appropriate methods need to be developed urgently for such studies. Furthermore, the identification of the activation markers on lymphocytes in the blood need to be examined and the laboratory tools and reagents developed and harmonized to study such responses.

Although serological assays appeared to be promising as correlates of protection in natural infection and after certain vaccinations, more studies need to be carried out to substantiate finding in different settings, different age groups and in ETEC-primed versus naive populations. Further studies are also needed to analyse the frequencies and magnitudes of immune responses to booster doses.

The ALS was considered the preferred method for studies of primary mucosal immune responses to ETEC toxins and CF antigens, while the use of serological responses as a correlate of protection needs to be further tested. Field and inpatient challenge studies indicate that serum anti-CFA/I, anti-CS3 and anti-LT antibody levels are associated with protection against ETEC illness. Cell-ELISA, cellular immunity and traditional measures need to be evaluated

immunologiques appropriés pour les études sur les vaccins et l'histoire naturelle de la maladie. ETEC est un germe pathogène non invasif qui attaque la muqueuse, et l'on pense que la réponse locale en anticorps au niveau de l'intestin est celle qui illustre le mieux la réponse immunitaire protectrice. Les réponses en IgA dans le liquide intestinal ont par conséquent été considérées comme un «étalon or» et ont été mesurées dans différents tissus muqueux, notamment dans des extraits de selles, des lavages intestinaux et des extraits de saponines provenant de biopsies duodénales. Comme ces mesures directes des réponses en anticorps sont relativement peu sensibles et difficiles à évaluer dans la pratique, d'autres indicateurs ou mesures ont été recherchés.

Parmi eux, la réponse des cellules sécrétrices d'anticorps (ASC), qui est un indicateur indirect de la réponse immunitaire muqueuse, a été utilisée dans des essais sur les vaccins anti-ETEC ainsi que pour analyser les réponses aux infections naturelles à ETEC. Les réponses ont été mesurées vis-à-vis de CF spécifiques et de la LT. On a également examiné les réponses en anticorps dans les surnageants lymphocytaires (ALS) afin de mesurer une exposition muqueuse récente aux ETEC ou à des vaccins candidats inactivés et vivants. On a mis en évidence une bonne concordance entre les réponses des ASC et des ALS aux infections naturelles à ETEC et aux vaccins candidats anti-ETEC vivants pour voie orale.

On a mis en évidence une corrélation entre l'ampleur des réponses sérologiques et la protection observée dans des études chez des volontaires. Ces réponses sérologiques ont été mises en évidence en présence de CF spécifiques et par des IgA et IgG sériques en présence de la toxine. Bien que des mesures directes des réponses immunitaires intestinales puissent être bienvenues, les réponses obtenues ont été moins sensibles et difficiles à adapter aux études basées sur le terrain. Un consensus s'est dégagé selon lequel il faudrait accorder plus d'importance au fait de trouver un indicateur de la protection afin de faciliter les études sur les réponses immunitaires. De tels indicateurs au laboratoire pourraient comprendre l'utilisation d'épreuves cellulaires sur des mononucléaires du sang périphériques, dont le nombre augmente transitoirement dans le sang après une exposition muqueuse récente aux vaccins oraux ou à l'infection naturelle.

Des efforts supplémentaires sont nécessaires pour élucider et comprendre les réponses dues à la mémoire immunologique des infections à ETEC, et il faut développer d'urgence des méthodes appropriées pour ces études. En outre, il faut chercher à identifier le marqueur de l'activation sur les lymphocytes sanguins et mettre au point les outils et les réactifs de laboratoire pour étudier ces réponses et les harmoniser.

Bien que les dosages sérologiques semblent être prometteurs comme indicateurs de la protection dans l'infection naturelle et après certaines vaccinations, davantage d'études doivent être effectuées pour confirmer cela dans différentes situations, différentes classes d'âge et dans des populations déjà sensibilisées à l'ETEC ou neuves. Des études complémentaires sont également nécessaires afin d'analyser la fréquence et l'ampleur des réponses immunitaires aux doses de rappel.

Les ALS ont été considérés comme la méthode de choix pour l'étude des réponses immunitaires muqueuses primaires aux toxines d'ETEC et aux antigènes CF, tandis que l'utilisation des réponses sérologiques comme indicateur de la protection doit être testée de manière plus approfondie. Les inoculations d'épreuve effectuées sur le terrain et en milieu hospitalier indiquent que les concentrations sériques d'anti CFA/I, d'anti-CS3 et d'anti-LT sont associées à une protection contre l'infection

for memory responses to ETEC antigens. Functional antibody assays (toxin-neutralizing or blocking CF adherence) need to be further developed and evaluated as possible correlates of ETEC protective immunity.

### Laboratory diagnostics required for ETEC

A major objective of the workshop was to review current progress and problems in the complex field of ETEC diagnostics. Varieties of techniques are available in research laboratories, including animal models, tissue culture assays and microbiological methods such as phenotypic methods employing enzyme immunoassays utilizing specific monoclonal antibodies, as well as molecular biological techniques. Many of these techniques are not readily available or suited to laboratories in the field. The University of Gothenburg in Sweden has systematically set up protocols for analysing lactose-fermenting *E. coli* colonies from MacConkey agar plates for both toxins by monoclonal antibody-based ELISAs as well as dot blot immunoassay for the detection of CFs. Multiplex PCR techniques and DNA-DNA hybridization techniques have been developed by various academic institutions.

The Working Group on Diagnostics agreed on an acute need for epidemiological and microbiological studies recognizing ETEC as one of the most important bacterial causes of diarrhoea. This lack of awareness is probably because most laboratories, both in developed and in less developed countries, do not have available facilities and biological reagents to appropriately detect and characterize ETEC. It was considered important to establish regional and local laboratories with the capability to diagnose ETEC using both genotypic and phenotypic methods. There is also a great need for rapid diagnostic kits for the detection of ETEC for surveillance in field sites and in areas lacking laboratory facilities.

Gothenburg University has recently been assigned as the WHO Collaborating Centre and Reference Laboratory for ETEC Diagnostics and Immune Responses, and will serve as a resource centre for procedures, reagents, reference ETEC strains bearing different types of toxin and CFs, as well as for the quality control of ETEC diagnostic methods. ■

à ETEC. L'ELISA cellulaire, l'immunité cellulaire et les mesures traditionnelles doivent être évaluées à la recherche d'une mémoire immunologique de la réponse aux antigènes d'ETEC. Des dosages d'anticorps fonctionnels (neutralisant la toxine ou bloquant l'immunoadhérence des CF) doivent être développés plus avant et évalués comme indicateurs possibles de l'immunité protectrice contre ETEC.

### Produits diagnostiques nécessaires au laboratoire ETEC

Un objectif important de l'atelier était d'examiner les progrès réalisés et les problèmes qui se posent actuellement dans le domaine complexe des produits diagnostiques nécessaires pour analyser ETEC. Diverses techniques sont disponibles dans les laboratoires de recherche, notamment des modèles animaux, des dosages en culture tissulaire et des méthodes microbiologiques comme les méthodes phénotypiques faisant appel à des dosages immunoenzymatiques à l'aide d'anticorps monoclonaux spécifiques, ainsi que des techniques de biologie moléculaire. Bon nombre d'entre elles ne sont pas facilement disponibles ni adaptées aux laboratoires sur le terrain. En Suède, l'Université de Gothenburg a systématiquement établi des protocoles pour l'analyse des colonies d'*E. coli* avec fermentation du lactose sur plaques de gélose de MacConkey, à la recherche des deux toxines par des techniques ELISA basées sur des anticorps monoclonaux et par dot blot pour la détection des CF. Les techniques de PCR multiplexe et d'hybridation ADN-ADN ont été mises au point par diverses institutions universitaires.

Le groupe de travail sur les produits diagnostiques a convenu qu'il y avait un besoin aigu d'études épidémiologiques et microbiologiques reconnaissant ETEC comme une des causes bactériennes les plus importantes de diarrhée. Cette non-reconnaissance est probablement due au fait que la plupart des laboratoires, dans les pays développés comme dans les moins développés, ne disposent pas des installations ni des réactifs biologiques permettant de détecter et de caractériser ETEC de manière appropriée. On a estimé qu'il était important de créer des laboratoires régionaux et locaux disposant des moyens voulus pour diagnostiquer les ETEC à l'aide de méthodes génotypiques et phénotypiques. On a également grand besoin de trousse de diagnostic rapide des infections à ETEC pour la surveillance des sites sur le terrain et des zones ne disposant pas d'installations de laboratoire.

L'Université de Gothenburg a récemment été désignée comme centre collaborateur et laboratoire de référence OMS pour le diagnostic des infections à ETEC et les réponses immunitaires, et elle servira de centre de référence pour les méthodes, les réactifs, les souches d'ETEC de référence portant différents types de toxines et de CF, ainsi que pour le contrôle de la qualité des méthodes de diagnostic des infections à ETEC. ■

#### 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.

## WHO web sites on infectious diseases Sites internet de l'OMS sur les maladies infectieuses

Avian influenza	<a href="http://www.who.int/csr/disease/avian_influenza/en/">http://www.who.int/csr/disease/avian_influenza/en/</a>	Grippe aviaire
Buruli ulcer	<a href="http://www.who.int/gtb-buruli">http://www.who.int/gtb-buruli</a>	Ulcère de Buruli
Cholera	<a href="http://www.who.int/cholera/">http://www.who.int/cholera/</a>	Choléra
Deliberate use of biological and chemical agents	<a href="http://www.who.int/csr/delibepidemics/">http://www.who.int/csr/delibepidemics/</a>	Usage délibéré d'agents chimiques et biologiques
Dengue (DengueNet)	<a href="http://who.int/denguenet">http://who.int/denguenet</a>	Dengue (DengueNet)
Eradication/elimination programmes	<a href="http://www.who.int/infectious-disease-news/">http://www.who.int/infectious-disease-news/</a>	Programmes d'éradication/élimination
Filariasis	<a href="http://www.filaria.org">http://www.filaria.org</a>	Filariose
Geographical information systems (GIS)	<a href="http://www.who.int/csr/mapping/">http://www.who.int/csr/mapping/</a>	Systèmes d'information géographique
Global atlas of infectious diseases	<a href="http://globalatlas.who.int">http://globalatlas.who.int</a>	Atlas mondial des maladies infectieuses
WHO Global Outbreak Alert and Response Network (GOARN)	<a href="http://www.who.int/csr/outbreaknetwork/en/">http://www.who.int/csr/outbreaknetwork/en/</a>	Réseau mondial OMS d'alerte et d'action en cas d'épidémie (GOARN)
Health topics	<a href="http://www.who.int/topics">http://www.who.int/topics</a>	La santé de A à Z
Influenza	<a href="http://www.who.int/csr/disease/influenza/en/">http://www.who.int/csr/disease/influenza/en/</a>	Grippe
Influenza network (FluNet)	<a href="http://who.int/flunet">http://who.int/flunet</a>	Réseau grippe (FluNet)
Integrated management of childhood illness	<a href="http://www.who.int/chd/">http://www.who.int/chd/</a>	Prise en charge intégrée des maladies de l'enfance
International Health Regulations	<a href="http://www.who.int/csr/ihr/en/">http://www.who.int/csr/ihr/en/</a>	Règlement sanitaire international
International travel and health	<a href="http://www.who.int/ith/">http://www.who.int/ith/</a>	Voyages internationaux et santé
Intestinal parasites	<a href="http://www.who.int/wormcontrol/">http://www.who.int/wormcontrol/</a>	Parasites intestinaux
Leishmaniasis	<a href="http://www.who.int/leishmaniasis">http://www.who.int/leishmaniasis</a>	Leishmaniose
Leprosy	<a href="http://www.who.int/lep/">http://www.who.int/lep/</a>	Lèpre
Lymphatic filariasis	<a href="http://www.who.int/lymphatic_filaria.org/en/">http://www.who.int/lymphatic_filaria.org/en/</a>	Filariose lymphatique
Malaria	<a href="http://www.who.int/malaria">http://www.who.int/malaria</a>	Paludisme
Neglected diseases	<a href="http://www.who.int/neglected_diseases/en/">http://www.who.int/neglected_diseases/en/</a>	Maladies négligées
Outbreaks	<a href="http://www.who.int/csr/don">http://www.who.int/csr/don</a>	Flambées d'épidémies
Poliomyelitis	<a href="http://www.polioeradication.org/casecount.asp">http://www.polioeradication.org/casecount.asp</a>	Poliomyélite
Rabies network (RABNET)	<a href="http://www.who.int/rabies">http://www.who.int/rabies</a>	Réseau rage (RABNET)
Report on infectious diseases	<a href="http://www.who.int/infectious-disease-report/">http://www.who.int/infectious-disease-report/</a>	Rapport sur les maladies infectieuses
Salmonella surveillance network	<a href="http://www.who.int/salmsurv">http://www.who.int/salmsurv</a>	Réseau de surveillance de la salmonellose
Smallpox	<a href="http://www.who.int/csr/disease/smallpox/">http://www.who.int/csr/disease/smallpox/</a>	Variole
Schistosomiasis	<a href="http://www.schisto.org">http://www.schisto.org</a>	Schistosomiase
Surveillance and response	<a href="http://www.who.int/csr/">http://www.who.int/csr/</a>	Surveillance et action
Tropical disease research	<a href="http://www.who.int/tdr/">http://www.who.int/tdr/</a>	Recherche sur les maladies tropicales
Tuberculosis	<a href="http://www.who.int/tb/">http://www.who.int/tb/</a> and/et <a href="http://www.stoptb.org">http://www.stoptb.org</a>	Tuberculose
Vaccines	<a href="http://www.who.int/immunization/en/">http://www.who.int/immunization/en/</a>	Vaccins
Weekly Epidemiological Record	<a href="http://www.who.int/wer/">http://www.who.int/wer/</a>	Relevé épidémiologique hebdomadaire
WHO Office in Lyon	<a href="http://www.who.int/csr/labepidemiology/en/">http://www.who.int/csr/labepidemiology/en/</a>	Bureau de l'OMS à Lyon
WHO Pesticide Evaluation Scheme (WHOPES)	<a href="http://www.who.int/whopes">http://www.who.int/whopes</a>	Schéma OMS d'évaluation des pesticides (WHOPES)
WHO Mediterranean Centre, Tunis	<a href="http://wmc.who.int">http://wmc.who.int</a>	Centre méditerranéen de l'OMS, Tunis
Yellow fever	<a href="http://www.who.int/csr/disease/yellowfev/en/">http://www.who.int/csr/disease/yellowfev/en/</a>	Fièvre jaune

WWW access • <http://www.who.int/wer>

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

Fax: (+4122) 791 48 21/791 42 85

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