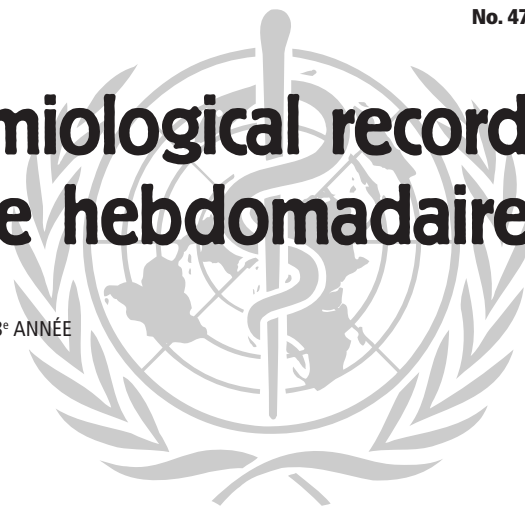


Weekly epidemiological record

Relevé épidémiologique hebdomadaire

21 NOVEMBER 2003, 78th YEAR / 21 NOVEMBRE 2003, 78^e ANNÉE

No. 47, 2003, 78, 405–408

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

Contents

405 Outbreak news:

Ebola haemorrhagic fever,
Republic of the Congo

405 Production of pilot lots
of inactivated influenza
vaccine in response
to a pandemic threat:
an interim biosafety risk
assessment

408 Influenza

408 International Health
Regulations

Sommaire

405 Le point sur les épidémies:

Fièvre hémorragique à virus
Ebola, République du Congo

405 Production de lots pilotes
de vaccin antigrippal inactivé
en réponse à une menace
de pandémie: évaluation
intermédiaire du risque pour
la sécurité biologique

408 Grippe

408 Règlement sanitaire
international

★ OUTBREAK NEWS

Ebola haemorrhagic fever, Republic of the Congo

As at 17 November 2003, the Ministry of Health of the Republic of the Congo has reported 11 cases (1 laboratory-confirmed and 10 epidemiologically linked) including 11 deaths in Mbomo district (Cuvette Ouest Department).

The Government of the Republic of the Congo has officially declared the epidemic as due to Ebola haemorrhagic fever. Laboratory testing carried by the Institut de Recherche pour le Développement (IRD) and the Centre International de Recherches Médicales de Franceville (CIRMF), Gabon, partners of the WHO Global Outbreak Alert and Response Network (GOARN), has confirmed the diagnosis of Ebola in clinical samples.

The government has requested the assistance of WHO in controlling the outbreak. The WHO Regional Office for Africa dispatched the West Africa sub-regional epidemic response team, which has arrived in the Cuvette Ouest Department. ■

Production of pilot lots of inactivated influenza vaccine in response to a pandemic threat: an interim biosafety risk assessment

Introduction

The 1997 and 2003 cases of human H5N1 infections in Hong Kong Special Administrative Region of China and the 2003 cases of human H7N7 infections in the Netherlands were caused by highly pathogenic avian in-

★ LE POINT SUR LES ÉPIDÉMIES

Fièvre hémorragique à virus Ebola, République du Congo

Au 17 novembre 2003, le ministère de la santé de la République du Congo a signalé 11 cas confirmés (1 en laboratoire et 10 par liaison épidémiologique), dont 11 décès dans le district de Mbomo (Département de la Cuvette Ouest).

Le gouvernement de la République du Congo a officiellement déclaré que l'épidémie est due à la fièvre hémorragique à virus Ebola. Les tests effectués sur des échantillons cliniques par l'Institut de Recherche pour le Développement (IRD) et par le Centre International de Recherches Médicales de Franceville (CIRMF), Gabon – tous deux partenaires du Réseau mondial OMS d'alerte et d'action en cas d'épidémie – confirment le diagnostic de fièvre à virus Ebola.

Le gouvernement a demandé l'aide de l'OMS pour lutter contre la flambée. Le Bureau régional OMS pour l'Afrique a envoyé l'équipe de lutte contre les flambées habituellement basée en Afrique occidentale, laquelle vient d'arriver dans le département de la Cuvette Ouest. ■

Production de lots pilotes de vaccin antigrippal inactivé en réponse à une menace de pandémie: évaluation intermédiaire du risque pour la sécurité biologique

Introduction

Les cas d'infection humaine à virus H5N1 survenus en 1997 et 2003 à Hong Kong – Région administrative spéciale de la Chine – et à virus H7N7 survenus en 2003 aux Pays-Bas sont dus à des virus grippaux aviaires hautement pathogènes. On

WORLD HEALTH
ORGANIZATION
Geneva

ORGANISATION MONDIALE
DE LA SANTÉ
Genève

Annual subscription / Abonnement annuel

Sw. fr. / Fr. s. 334.–

6.500 11.2003

ISSN 0049-8114

Printed in Switzerland

fluenza viruses. It is generally accepted that continued exposure to influenza viruses circulating in wild and domestic avian species poses a pandemic threat, and global efforts are now under way to develop emergency prophylactic measures for pandemic influenza. It will be necessary to rapidly develop safe vaccine strains capable of growth in eggs or in mammalian cells as soon as a pandemic warning is received and to produce vaccine according to epidemiological demands.

The influenza virus genome consists of 8 segments. A high-growth reassortant will probably provide the basis for pandemic vaccine development. The reassortant is likely to contain haemagglutinin (HA) and neuraminidase (NA) proteins from the novel avian or human virus and the remaining 6 proteins from a human influenza virus, such as A/PR/8/34 (H1N1). If the novel avian virus is highly pathogenic, the HA gene will first be modified to remove the multibasic amino acids at the HA connecting peptide. These modifications will eliminate the known determinants of high pathogenicity.

Reassortants will be produced by reverse genetics using an 8- or 12-plasmid strategy. The generation of reassortants derived from highly pathogenic avian influenza viruses is carried out under Biosafety Level (BSL) 3+ or BSL4 conditions. After demonstration of nonpathogenicity, reassortants are available to vaccine manufacturers for production of pilot lots of inactivated vaccine for experimental use and clinical studies. WHO has prepared an interim risk assessment for the production of H5N1 vaccines to provide guidance to vaccine manufacturers on biosafety measures. The key features are summarized below.

Virus rescue

Virus will be rescued from plasmid transfection of a Vero cell line approved for human vaccine production. Reassortant virus will contain 6 internal protein gene segments of PR8 virus plus the NA and modified HA segment of the avian virus. The virus will subsequently be grown in eggs or in mammalian cells.

Pathogenicity testing

The H5N1 × PR8 reassortants will not contain the gene constellation considered necessary for pathogenicity in chickens, mice and ferrets. The reassortant H5N1 viruses will be assessed and found negative for pathogenicity in the statutory chicken intravenous pathogenicity (IVP) test (IVP index of 1.2 or less) and in ferrets (virus replication and clinical symptoms consistent with those induced by the attenuated parent virus (e.g. PR8) and distinguishable from the H5N1 avian virus infection). Tests for safety in mice may also be performed. The reassortant virus may then be distributed to vaccine manufacturers.

Identification of hazards associated with the reassortant vaccine virus

A/PR/8/34 virus reassortants

The human influenza virus A/PR/8/34 will be used to create reassortants. This virus has capacity for high growth both in mammalian cells and in embryonated chicken eggs, and has had extensive passage in mice, ferrets and chicken eggs. The

admet généralement que l'exposition ininterrompue aux virus grippaux qui circulent chez les oiseaux sauvages et domestiques constitue une menace de pandémie et des efforts à l'échelle mondiale sont en cours pour élaborer des mesures prophylactiques d'urgence en cas de grippe pandémique. Il sera nécessaire de mettre au point rapidement des souches vaccinales sans danger, capables de pousser sur œuf ou sur cellules de mammifères dès que la menace pandémique est connue et de fabriquer le vaccin en fonction de la demande épidémiologique.

Le génome du virus grippal comporte 8 fragments. Un virus réassorti cultivant avec un bon rendement devrait permettre la mise au point d'un vaccin adapté à une pandémie. Le virus réassorti pourrait contenir l'hémagglutinine (HA) et la neuraminidase (NA) du virus aviaire ou humain nouveau, ainsi que les 6 autres protéines d'un virus grippal humain, A/PR/8/34 (H1N1) par exemple. Si le nouveau virus aviaire est hautement pathogène, on commencera par modifier le gène HA pour éliminer les acides aminés multibasiques du site de clivage de HA. Ces modifications doivent éliminer les déterminants connus de haute pathogénicité.

Les virus réassortis seront produits par génétique inverse, au moyen de 8 ou de 12 plasmides. Les virus réassortis provenant de virus grippaux aviaires hautement pathogènes sont obtenus dans des établissements où la sécurité biologique est de niveau 3+ ou 4. Après mise en évidence de l'absence de pathogénicité, les virus réassortis sont mis à disposition des fabricants de vaccins pour la fabrication de lots pilotes de vaccin inactivé destiné aux études expérimentales ou cliniques. L'OMS a élaboré un protocole d'évaluation intermédiaire du risque applicable à la production de vaccin H5N1 pour donner aux fabricants des lignes directrices concernant les mesures de sécurité biologique. Les éléments essentiels sont résumés ci-dessous.

Obtention du virus

Le virus sera obtenu par transfection plasmidique d'une lignée de cellules Vero approuvée pour la production de vaccins à usage humain. Le virus réassorti contiendra les segments géniques des 6 protéines internes du virus PR8, plus NA et le segment HA modifié du virus aviaire. Le virus sera ensuite cultivé sur œuf ou sur cellules de mammifères.

Test de pathogénicité

Le virus réassorti H5N1 × PR8 ne doit pas contenir tous les gènes considérés comme nécessaires pour qu'il soit pathogène chez le poulet, la souris et le furet. Les virus H5N1 réassortis seront évalués et les tests de pathogénicité doivent être négatifs: test classique de pathogénicité intraveineuse chez le poulet (indice égal ou inférieur à 1,2) et test chez le furet (réplication virale et manifestations cliniques comparables à celles induites par le virus parent atténué (PR8 par exemple) mais distinctes de celles induites par l'infection à virus aviaire H5N1). Des tests d'innocuité chez la souris pourront également être réalisés. Le virus réassorti peut ensuite être distribué auprès des fabricants de vaccins.

Identification des risques associés au virus vaccinal réassorti

Virus A/PR/8/34 réassortis

Le virus grippal humain A/PR/8/34 sera utilisé pour obtenir des virus réassortis. Ce virus a la capacité de pousser à la fois sur cellules de mammifères et sur œuf de poule embryonné; il a subi un grand nombre de passages sur souris, furet, et œuf de poule, dont le résultat

result of such passage history is almost complete inability to replicate in and complete attenuation for humans. There are no known risks to human health from the PR8 virus.

Published information indicates that a PR8 reassortant with a 6:2 genotype (6 segments from PR8, and HA and NA from a wild-type human influenza virus) is likely to be avirulent in humans. It is envisaged that a reassortant bearing 6 internal protein genes of PR8 virus and the NA and modified HA of the H5N1 virus will also be attenuated for humans.

Properties of the haemagglutinin protein

The influenza HA spike protein has specificity for sialic acid receptors on cell surface molecules. HAs present on human influenza A viruses preferentially bind to cell receptors containing α 2,6 linked sialic acid residues, whereas avian influenza viruses preferentially bind to α 2,3 linked sialic acid. It is thus anticipated that the α 2,3 receptor specificity of avian viruses will reduce the efficacy of binding to human respiratory epithelial cells.

The HA protein must be cleaved into HA1 and HA2 by host cell proteases for a productive infection. Pathogenicity of H5 and H7 influenza A viruses for poultry is largely determined by the presence of multibasic amino acids at the HA connecting peptide, and the available evidence suggests that virulence of the 1997 H5N1 viruses for humans was related to the presence of multibasic amino acids. Removal of the basic amino acids from the 2003 H5N1 virus HA is therefore considered advisable to reduce the potential for harm to humans and the environment.

The H5N1 \times PR8 reassortants contain an avian H5 HA with preference for α 2,3 linked residues, so it is unlikely that the H5N1 reassortants will be capable of binding to and replicating in human cells.

Hazard of genes being transferred to other influenza viruses

Influenza viruses readily exchange genes by the process of reassortment. A theoretical possibility therefore exists that secondary reassortants could occur between a newly created H5N1 \times PR8 reassortant and naturally occurring human or animal influenza viruses. Although the H5N1 \times PR8 reassortant will be considered noninfectious and attenuated for humans, a secondary reassortant with a human influenza virus may be infectious and pose an epidemic threat. However, the likelihood of such an event is low.

Environmental hazards

Influenza viruses are capable of naturally infecting a variety of animal species (birds, pigs, horses, humans, aquatic mammals, ferrets), although host restrictions limit the range of certain virus subtypes. The available evidence demonstrates that the acquisition of PR8 internal genes will inhibit virus replication and virulence in birds. It is conceivable that pigs are susceptible to infection by an H5N1 reassortant because viruses with avian receptor specificity are known to replicate in this species. It is also known that mice can be experimentally infected with some influenza viruses: the PR8 strain is known to be lethal for mice, and H5N1 \times PR8 reassortants can replicate in this species. Steps should therefore be taken to prevent exposure of susceptible species.

tat est une incapacité presque complète à se répliquer chez l'homme et une atténuation totale vis-à-vis de l'homme. Le virus PR8 ne présente aucun risque connu pour la santé humaine.

D'après la littérature publiée, un virus PR8 réassorti ayant un génotype 6:2 (6 fragments du virus PR8, plus HA et NA d'un virus grippal humain de type sauvage) a des chances d'être avirulent pour l'homme. On suppose qu'un virus réassorti comportant les gènes des 6 protéines internes du virus PR8 ainsi que NA et HA modifiée du virus H5N1 sera également atténué pour l'homme.

Propriétés de l'hémagglutinine

La protéine HA des spicules hémagglutinants du virus grippal porte une spécificité pour les récepteurs constitués par l'acide sialique des molécules de la surface des cellules. L'hémagglutinine des virus grippaux humains A se lie préférentiellement aux récepteurs cellulaires qui contiennent un reste acide sialique en liaison α 2,6, tandis que les virus grippaux aviaires se lient préférentiellement à l'acide sialique en liaison α 2,3. On peut en conséquence prévoir que la spécificité pour le récepteur α 2,3 des virus aviaires rendra la liaison aux cellules de l'épithélium respiratoire humain moins efficace.

La protéine HA doit être clivée en HA1 et HA2 par les protéases de la cellule hôte pour que l'infection soit productive. La pathogénicité des virus grippaux A H5 et H7 pour les oiseaux domestiques est largement déterminée par la présence d'acides aminés multibasiques dans le peptide qui joue le rôle de site de clivage HA et les arguments dont on dispose indiquent que la virulence pour l'homme des virus H5N1 de 1997 était associée à la présence d'acides aminés multibasiques. L'élimination des acides aminés basiques de HA dans le virus H5N1 de 2003 est par conséquent considérée comme souhaitable pour diminuer les risques éventuels pour l'homme et l'environnement.

Les virus réassortis H5N1 \times PR8 contiennent une HA aviaire de sous-type H5 s'associant préférentiellement aux résidus en liaison α 2,3; il est par conséquent peu probable que les virus H5N1 réassortis soient capables de se lier à des cellules humaines et de s'y répliquer.

Risques du transfert de gènes à d'autres virus grippaux

Les virus grippaux échangent facilement des gènes par réassortiment. Il existe par conséquent une possibilité théorique que des virus réassortis secondaires puissent se former à partir d'un virus réassorti H5N1 \times PR8 nouvellement créé et des virus grippaux humains ou animaux naturels. Si les virus réassortis H5N1 \times PR8 sont considérés comme non infectieux et atténués pour l'homme, un virus réassorti secondaire avec un virus grippal humain pourrait être infectieux et présenter un risque épidémique. La probabilité d'un tel événement est cependant faible.

Risques environnementaux

Les virus grippaux sont capables d'infecter naturellement diverses espèces animales (oiseaux, porc, cheval, homme, mammifères aquatiques, furet) bien que la restriction d'hôte limite la variété de certains sous-types de virus. Les données disponibles montrent que l'introduction des gènes des protéines internes de PR8 inhibera la réplication virale et la virulence chez les oiseaux. On peut concevoir que le porc soit sensible à l'infection par un virus H5N1 réassorti dans la mesure où les virus ayant une spécificité pour les récepteurs aviaires sont connus pour se répliquer chez cette espèce. On sait aussi que la souris peut être expérimentalement infectée par certains virus grippaux : la souche PR8 est létale chez la souris et les virus réassortis H5N1 \times PR8 peuvent se répliquer chez cette espèce. On prendra par conséquent les mesures nécessaires pour éviter l'exposition des espèces sensibles.

Assignment of the containment level

The parental PR8 virus is a hazard group 2 biological agent, and the HA of the H5N1 virus will be engineered so that the rescued virus will be nonpathogenic. Given the low likelihood of harm to human health, BSL2+ will be the provisional containment level (i.e. BSL2 with additional controls in place).

Nature of the work and review of control measures to safeguard human health

In view of the unique manufacturing environment, it may not be possible to achieve such containment levels using research laboratory measures. The following alternative measures may therefore be needed:

- use of other suitable barrier systems;
- where virus manipulations on the "open bench" are unavoidable, staff should be protected by use of powered full-face respirators, equipped with high-efficiency particulate air filters;
- antiviral prophylaxis for staff in the production area and for those in adjacent areas.
- a code of practice for the work, to include procedures for preventing exposure of the H5N1 reassortant to normal human and animal influenza viruses; minimizing the creation of aerosols; safe decontamination of waste and equipment; emergencies; staff training. ■

Définition du degré de confinement

Le virus parent PR8 est un agent biologique devant être traité conformément aux normes de sécurité biologique niveau 3 et l'hémagglutinine au virus H5N1 sera modifiée de façon à ce que le virus obtenu soit non pathogène. Dans la mesure où le risque pour la santé humaine est faible, le confinement sera provisoirement de niveau 2+ (c'est-à-dire sécurité biologique de niveau 2 plus un certain nombre de mesures).

Nature du travail et examen des mesures de protection de la santé humaine

Etant donné les caractéristiques de l'environnement de fabrication, il peut ne pas être possible de parvenir au niveau de confinement que l'on obtient avec les mesures de sécurité appliquées dans les laboratoires de recherche. Si nécessaire, on prendra les mesures suivantes:

- recours à d'autres méthodes physiques de protection;
- si la manipulation du virus sans enceinte de protection est inévitable, protection du personnel par un appareil respiratoire complet en pression positive équipé de filtres HEPA (*high efficiency particulate air*);
- prophylaxie antivirale pour le personnel du secteur production et celui des zones voisines;
- code de bonnes pratiques de travail incluant les méthodes de prévention de l'exposition du virus H5N1 réassorti aux virus grippaux humains et animaux normaux; diminution de la formation d'aérosols; décontamination appropriée des déchets et du matériel; situations d'urgence; formation du personnel. ■

Influenza

Canada (15 November 2003).¹ During week 45, influenza outbreaks were reported in Alberta and Ontario. Widespread influenza activity was reported throughout Saskatchewan. Localized influenza activity was reported in Alberta, British Columbia, Northwest Territories and Ontario. Influenza-like illness (ILI) consultation rate was 36 cases per 1000 consultations, which is below the national baseline level for week 45. To date, of the 43 influenza viruses antigenically characterized by the National Microbiology Laboratory, one is A/New Caledonia/20/99-like virus, 18 are A/Panama/2007/99-like viruses and 24 are A/Fujian/411/2002-like viruses.

Portugal (8 November 2003).² During week 45, regional influenza outbreaks were reported, with 28 influenza A(H3N2) viruses detected. To date, 3 viruses have been antigenically characterized; all are A/Fujian/411/2002-like. ■

¹ See No. 46, 2003, p. 404.

² See No. 43, 2003, p. 380.

Grippe

Canada (15 novembre 2003).¹ Des flambées de grippe ont été signalées à Alberta et à Ontario au cours de la semaine 45. Une activité grippale généralisée a été signalée dans toute la région de la Saskatchewan et une activité grippale généralisée à Alberta, en Colombie Britannique, dans les Territoires du Nord-Ouest et à Ontario. Le taux de consultations pour syndromes grippaux a été de 36 cases pour 1000 consultations, ce qui est au-dessous du niveau de base national pour la semaine 45. A ce jour, sur les 43 virus grippaux antigéniquement caractérisés par le Laboratoire national de microbiologie, un était analogue à A/New Caledonia/20/99, 18 analogues à A/Panama/2007/99 et 24 à A/Fujian/411/2002.

Portugal (8 novembre 2003).² Des flambées régionales de grippe ont été signalées au cours de la semaine 45, avec le dépistage de 28 virus grippaux A(H3N2). A ce jour, 3 virus ont été génétiquement caractérisés et ils se sont tous avérés analogues à A/Fujian/411/2002. ■

¹ Voir N° 46, 2003, p. 404.

² Voir N° 43, 2003, p. 380.

INTERNATIONAL HEALTH REGULATIONS / RÈGLEMENT SANITAIRE INTERNATIONAL

Notifications of diseases received from 14 to 20 November 2003 / Notifications de maladies reçues du 14 au 20 novembre 2003

Cholera / Choléra		Cases / Deaths Cas / Décès	Cases / Deaths Cas / Décès		Cases / Deaths Cas / Décès	
Africa / Afrique			Asia / Asie			
Democratic Republic of the Congo / République démocratique du Congo		Mali	13-26.X		Japan / Japon	20.VIII-24.X
.....	13.X-9.XI	85	5	7(6i)
.....	943					
	77					i = imported case – cas importé