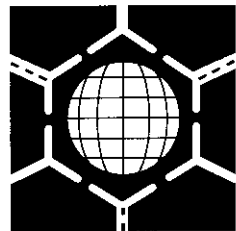


Accès global aux diagnostics MTS



Retour du secrétariat de la SDI à l'OMS

Le secrétariat de l'Initiative pour la mise au point d'épreuves de maladies sexuellement transmissibles (SDI) quitte l'ONUSIDA, à laquelle il était attaché depuis janvier 1996, pour retourner à l'OMS. La SDI a d'abord fait partie du Programme mondial de lutte contre le sida (GPA) de l'OMS en 1994, mais la cessation du programme en 1996 avait entraîné le déménagement du secrétariat à l'ONUSIDA qui entrait alors en activité. Le secrétariat se retrouve maintenant au sein du Groupe des maladies transmissibles, dont le D^r Heymann a été nommé le directeur exécutif lors

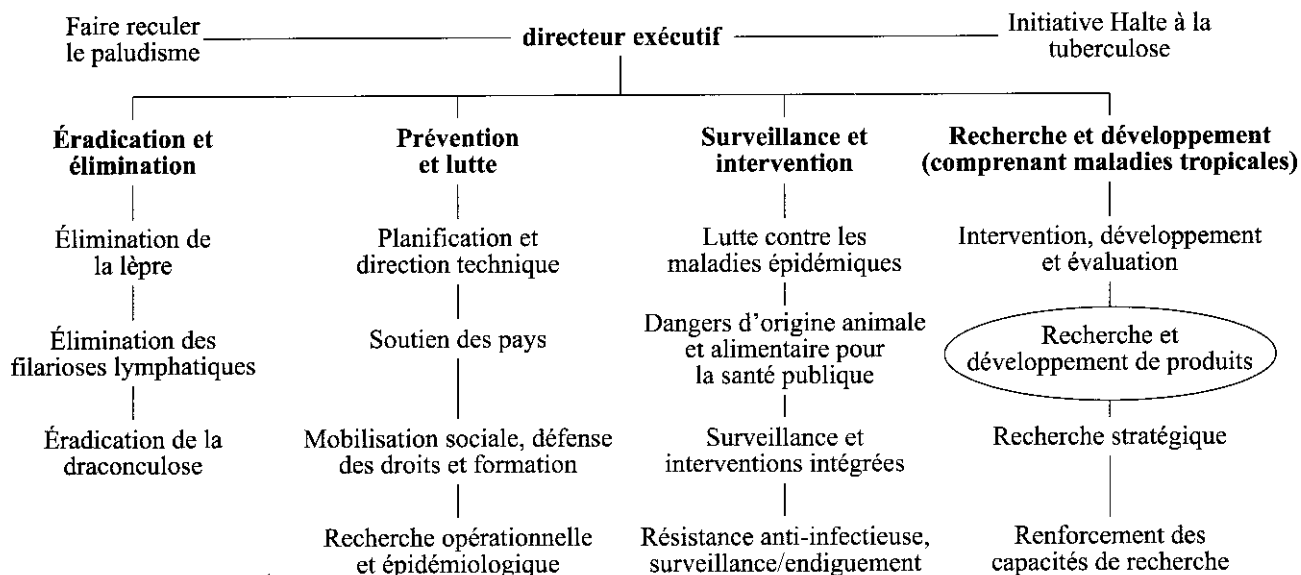
de la dernière réorganisation de l'OMS.

Cette importante réorganisation de l'OMS coïncide avec l'arrivée de la nouvelle directrice générale, la D^{re} Gro Harlem Brundtland, ex-première ministre de la Norvège. La nouvelle structure de l'OMS rassemble de nombreux programmes autrefois distincts en neuf groupes, chacun ayant son propre directeur exécutif. La structure du Groupe des maladies transmissibles (voir ci-dessous) est organisée horizontalement et repose sur les domaines de fonctionnement, plutôt que verticalement, en fonction et des maladies, et devrait offrir une souplesse et une collaboration accrues. En plus de la consolidation des programmes exis-

tants, la réorganisation a donné lieu au lancement de nombreuses activités nouvelles. Le Groupe des maladies transmissibles englobe les activités de nombreux programmes, comme les programmes liés à la lèpre, à la tuberculose et à la surveillance des maladies tropicales, à la surveillance et à la lutte contre les autres maladies transmissibles et émergentes, ainsi qu'à la recherche et à la formation dans le domaine des maladies tropicales.

Le D^r Mark Perkins dirigera les activités de diagnostic du SDI dans le cadre de l'équipe de Recherche et développement de produits (encadré). L'Initiative de diagnostic de la tuberculose et les nouveaux projets de diagnostic des autres maladies prioritaires font aussi partie de cette activi-

Groupe des maladies transmissibles



té. Le Diagnostic se joint aux activités liées à la découverte de médicaments et de vaccins contre les maladies tropicales à l'intérieur de l'équipe de Recherche et développement de produits, dirigée par le D^r Win Gutteridge. La SDI s'attend à tirer parti du savoir-faire de cette équipe en matière de recherche et de développement de produits et de ses collaborations avec l'industrie. Les services de Recherche et développement, dont font partie Recherche et développement de produits, sont dirigés par le D^r Carlos Morel et comprennent le Programme spécial, lancé il y a 25 ans, de recherche et de formation dans le domaine des maladies tropicales.



Le point sur la SDI

L'organisation et l'administration de la SDI ont connu des changements majeurs au cours de la dernière année. Le secrétariat de la SDI est maintenant incorporé au Groupe des maladies transmissibles. Le recrutement d'un agent d'administration de la SDI est en cours.

Auparavant, deux grands comités étaient chargés de l'orientation des activités de la SDI. Le Comité directeur assurait un leadership, fournissait une orientation et était responsable de l'examen des demandes d'autorisation et des subventions. Un comité des parties intéressées (CIP) accueillait les intervenants épousant les buts de la SDI visant le développement de méthodes diagnostiques peu coûteuses et rapides, utilisables dans les milieux disposant de peu de ressources. En passant de l'ONUSIDA à l'OMS, l'organisation de la SDI a aussi changé.

Les comités existants ont été dissous et les membres remerciés pour le temps et l'expertise qu'ils ont consacrés à cette entreprise. Les présidents précédents, Max Chernesky, du Comité directeur et Paul Delay, du CIP, ont démissionné de ces postes. Tous deux continuent cependant de travailler à la SDI : le D^r Delay

est toujours membre du SDI et le D^r Chernesky préside le Comité consultatif scientifique.

Le SDI demeure en place et est présidé par M. Julius Schachter.

Les activités de la SDI se transforment. Plutôt que de jouer un rôle de mini-organisme de subvention à la mise au point de méthodes de dosage, la SDI se consacre maintenant à l'évaluation d'épreuves diagnostiques des MTS rapides, déjà existantes, dans les milieux où il y a peu de ressources, en vue d'obtenir ce qui sera vraisemblablement la prochaine génération d'épreuves diagnostiques rapides. C'est pourquoi nous essayons d'acquérir de l'expérience en évaluation de tests dans les conditions mêmes de leur utilisation. Ce qui est évidemment plus difficile à réaliser que dans les laboratoires de recherche sophistiqués et les cliniques faisant ce type de recherche.

La SDI va poursuivre ses activités de financement de la recherche dans le cadre de restrictions budgétaires, activités qui seront examinées, au besoin, par un Comité consultatif scientifique. Au lieu d'un comité permanent, on fera appel à l'expertise nécessaire pour chaque examen; le D^r Chernesky assurera la direction de ce comité. Les subventions déjà accordées seront valides jusqu'à leur échéance et si les travaux progressent de façon satisfaisante et que l'on dispose de fonds, ils continueront de recevoir un appui financier.

Le bulletin d'Accès global, publié depuis 6 ans dans le cadre du Program for Appropriate Technology in Health (PATH) à Seattle est présentement publié à Santé Canada et coordonné par la D^{re} Ann Jolly du Bureau du VIH/sida, des MTS et de la tuberculose. Nous sommes reconnaissants envers des individus comme Jaqueline Sherris, Diane Lachman et leurs collègues à PATH qui ont toujours bien mené ce projet. Nous sommes également reconnaissants envers la Rockefeller Foundation pour son appui financier.

Depuis 4 ans, six projets ont été financés par le SDI. Le présent numéro du bulletin résume les progrès réalisés par plusieurs de ces projets.



Anticorps monoclonaux diagnostiques de la protéine du récepteur de l'hémoglobine d'*H. ducreyi*

L'objectif de ce projet a été de mettre au point une méthode de diagnostic du chancre mou, reposant sur les anticorps monoclonaux et que l'on puisse utiliser sur place, sans faire de culture. On utilise les anticorps monoclonaux (Acm) spécifiques de la protéine de fixation de l'hémoglobine (HgbA) d'*Haemophilus ducreyi*. On a choisi l'HgbA pour le dépistage d'*H. ducreyi* parce que cette protéine importante est présente dans tous les isolats examinés; elle conserve son activité immunologique et fonctionnelle; on peut en purifier de petites quantités, rapidement et en une seule étape, et elle possède un grand pouvoir immunogène chez les animaux de laboratoire. Les mutants isogéniques de l'HgbA sont avirulents chez le modèle humain d'infection par *H. ducreyi* (données non publiées), laissant supposer que l'expression du gène est nécessaire pour qu'il y ait maladie et qu'il n'existe pas de mutants naturels. C'est pourquoi l'HgbA pourrait s'avérer une bonne cible pour le dépistage immunologique.

On a purifié de l'HgbA native (nHgbA, de *H. ducreyi*) et recombinante (rHgbA, surexprimée chez *E. coli*), immunisé des souris et criblé plusieurs milliers de surnageants d'hybridomes pour la réactivité. On a réalisé le clonage de nombreuses lignées d'hybridomes par réduction des dilutions, et les clones qui se sont avérés stables ont été utilisés pour produire des surnageants cellulaires en volumes de 0,5 L aux fins de caractérisation plus avancée. Nous avons purifié des IgG spécifiques de

chacun d'eux en quantités analytiques. Nous avons mis au point une méthode de capture ELISA simple qui utilise chacun des anticorps purifiés à titre d'anticorps capteur et le sérum antiépéptide de lapin à titre d'anticorps de détection. La réactivité croisée des anticorps monoclonaux a été évaluée par rapport à un panel de souches provenant de régions géographiques différentes et contenant divers ribotypes (P.A. Totten, manuscrit en préparation).

Nous avons isolé, purifié et caractérisé plusieurs Acm. Nous avons cultivé des souches géographiquement diversifiées (voir ci-dessus) et préparé les extraits cellulaires pour des tests. Dans notre protocole, les cellules d'*H. ducreyi* sont solubilisées à l'aide d'un détergent et tous les Acm reconnaissent cette forme d'HgbA. Parmi les nombreux Acm évalués, nous en avons identifié trois particuliers qui ne sont pas compétiteurs et qui reconnaissent la protéine HgbA de toutes les souches d'*H. ducreyi* utilisées pour les épreuves. Nous estimons qu'avec le test ELISA simple, non optimisé, nous pouvons facilement détecter 50 ng d'HgbA purifiée, mélangée à un extrait cellulaire d'un mutant d'*H. ducreyi* incapable de synthétiser l'HgbA. Cela correspond sensiblement à 100 000 bactéries (en fonction de la souche, du degré de privation en hème et d'autres variables). Nous n'avons pas essayé d'optimiser cette méthode ELISA, mais nous l'avons plutôt utilisée aux seules fins d'évaluation des souches. Nous disposons donc de trois Acm pour la capture et la détection.

Christopher Elkins, Ph.D.



Mode de détection rapide destiné au diagnostic du chancre mou

Une étude de faisabilité a été entreprise en vue d'évaluer l'utilité d'anticorps polyclonaux et monoclo-

naux (Acm) anti-protéines du stress d'*H. ducreyi* aux fins de la détection, par capture, de ce micro-organisme dans les échantillons cliniques; on espère aussi évaluer leurs performances avec la technique immunochromatographique en vue de leur utilisation dans les pays en développement qui ne disposent pas de laboratoires.

Au cours de cette étude, on a produit et purifié des anticorps monoclonaux et polyclonaux en grande concentration. L'Acm BB11 a réagi avec toutes les souches d'*H. ducreyi*, alors que l'Acm CC11 et l'anticorps polyclonal réagissaient en plus avec d'autres espèces d'*Haemophilus*. La détection de l'épitope visé par BB11 et non par CC11 a été améliorée grâce à une incubation préalable en présence de SDS à 0,1 %, ce qui n'a pas été le cas avec le Triton X-100, le Tween 20 ou le Tween 80. L'Acm BB11 s'est avéré le plus utile de ces anticorps et, en association avec l'anticorps polyclonal, il a servi à la mise au point d'une méthode de détection par capture. On a en outre réussi à conjuguer le Acm BB11 à de l'or colloïdal et ces produits de conjugaison sont capables de reconnaître *H. ducreyi* quand on utilise l'immunochromatographie.

Afin de déterminer la sensibilité et la spécificité de ces anticorps pour la détection de l'antigène d'*H. ducreyi* dans les échantillons cliniques, on propose d'évaluer leur performance dans un test d'immuno-capture avant d'aller plus loin dans la mise au point du protocole immunochromatographique. Les anticorps possédant une sensibilité et une spécificité élevées sont souvent facilement transférables de la méthode ELISA à l'immunochromatographie. Le matériel clinique consistait de prélèvements par écouvillonnage d'ulcères génitaux provenant de plus de 200 hommes s'étant présentés à des cliniques d'Afrique du Sud souffrant d'ulcérations génitales, lesquels prélèvements avaient été transférés congelés à St. Mary's à Londres. La cause de l'ulcération génitale de ces patients

avait été déterminées au SAIMR de Johannesburg, à l'aide de tests de dépistage de *Treponema pallidum*, d'*H. ducreyi*, du virus de l'herpès et de *Chlamydia trachomatis*. On entreprend maintenant l'optimisation de la libération des antigènes des écouvillons aux fins d'évaluation des échantillons.

Catherine Ison, Ph.D.

Ron Ballard, Ph.D.



Rapport provisoire du Panel d'échantillons de la SDI

Les efforts en vue de constituer un panel d'échantillons de matériel clinique contenant des pathogènes se poursuivent. Le nombre d'échantillons du bas appareil génital prélevés chez des hommes et des femmes apparaissent au tableau 1A. Ces échantillons proviennent d'études effectuées en Amérique du Nord, en Afrique et en Asie. On a aussi reçu de S. Morse et de R. Ballard des échantillons de frottis d'ulcères génitaux. La ventilation de ces échantillons apparaît au tableau 1B.

On offre aussi des agents cultivés en laboratoire pour constituer des panels de sensibilité et de spécificité destinés aux épreuves en vue du diagnostic éventuel des maladies transmises sexuellement. On y retrouve du matériel provenant de testicules de lapin pour *Treponema pallidum* ainsi que la flore normale des voies génitales pour le panel de spécificité.

J. Schachter, Ph.D.



Mise au point d'un essai de traction pour la syphilis par immunochromatographie à phase unique

PATH et Omega Diagnostics viennent de compléter la procédure initiale de développement d'un pro-

Tableau 1. Panel d'échantillons de la SDI

A. Bas appareil génital

	Chlamydia	Gonococcus	Les deux	Les deux
	+	+	+	-
Femmes				
Écouv. vaginaux	340	290	236	1 680
Écouv. cervicaux	197	184	131	924
Urine	573	338	165	3 302
Hommes				
Urine	487	174	29	4 846

B. Échantillons d'ulcères génitaux

Endroit	Nombre total	Virus Herpès Simplex +	Haemophilus ducreyi +	Treponema pallidum +
Afrique du Sud	173	24	132	17
Jamaïque	214	138	54	22
Total	387	162	186	39

duit. Il s'agit d'un essai de traction par immunochromatographie à phase unique capable de détecter les anticorps spécifiques au *T. pallidum*. En utilisant le plasma ou le sérum du sujet, les résultats apparaissent en 10 minutes ou moins. Les bandes, conditionnées sous forme de sachets en pellicule d'aluminium, sont utilisables pendant plusieurs mois à des températures ambiantes.

Au cours des derniers mois de 1998, Omega et PATH ont réussi le transfert de l'essai à Quorum Diagnostics, une filiale de Omega sise à Vancouver au Canada. On a rédigé des procédures d'utilisation normalisées ainsi que d'autres documents de fabrication et on vient d'entamer une production commerciale.

Une première évaluation prospective sur le terrain de l'essai de traction pour la syphilis pratiqué sur 187 échantillons biologiques obtenus d'une clinique de MTS à Mumbai en Inde, a révélé une sensibilité de 96,6 % et une spécificité de 96,1 % par rapport aux résultats des essais RPR et TPHA. En outre, l'essai a donné un résultat positif pour plusieurs sujets souffrant d'une syphilis précoce laquelle ne réagissait pas encore à l'antigène de l'essai RPR. Une étude rétrospective menée à Birmingham,

Alabama, sur 260 échantillons biologiques d'une clinique de MTS a également témoigné de la haute sensibilité et spécificité de l'essai. Des données semblables ont été obtenues à partir d'écrans plasmiques ou sérologiques venant de l'Afrique du Sud et de l'Europe de l'Est. Des études cliniques prospectives sont présentement en cours au Mexique, au Pérou et dans les Philippines, et d'autres études sont projetées. PATH et Omega travaillent actuellement à l'amélioration de l'essai, y compris une modification de la bande qui permettrait d'utiliser du sang total comme échantillon et ainsi d'effectuer l'essai directement à partir d'un échantillon de sang veineux ou encore, de préférence, à partir d'une piqûre de doigt.

Milton Tam, Ph.D.

Membres fondateurs de l'Initiative diagnostics MTS

- D^r Seth Berkley, The Rockefeller Foundation
- D^r Claude Betts, Organisation panaméricaine de la Santé
- Richard Frank, Population Services International
- D^r Lieve Franssen, Ph.D., Commission des communautés européennes
- D^r Jeffrey Harris, United States Agency for International Development
- D^r Subhash Hira, Ministry of Health/Zambia
- Penelope J. Hitchcock, D.V.M., M.S., National Institutes of Health
- D^r King K. Holmes, Ph.D., University of Washington
- D^r Franklyn Judson, Denver Department of Health and Hospitals
- Michael Norgard, Ph.D., University of Texas
- Sheila Mitchell, Family Health International
- Stephen Morse, Ph.D., Centers for Disease Control and Prevention
- D^r Peter Piot, Ph.D., Institute of Tropical Medicine
- Lair Guerra de Macedo Rodrigues, D^r P.H., Ministry of Health/Brazil
- Wendy Roseberry, Banque mondiale
- Julius Schachter, Ph.D., University of California, San Francisco
- D^r Jimmy E. H. Sng, Ministry of Health/Singapore
- Milton Tam, Ph.D., PATH/Seattle
- Hiko Tamashiro, Ph.D., Organisation mondiale de la Santé
- D^r Kathleen Toomey, M.P.H., Centers for Disease Control and Prevention
- D^r Judith N. Wasserheit, M.P.H., Centers for Disease Control and Prevention

Accès global aux diagnostics MTS est publié par la Division de la prévention et de la lutte contre les MTS, Bureau du VIH/sida, des MTS et de la tuberculose, Laboratoire de lutte contre la maladie, Santé Canada. Il nous met au courant des activités de l'Initiative SDI. Les membres de l'Initiative sont des experts du domaine de la recherche et de la lutte contre les MTS. Le contenu d'*Accès global* ainsi que les opinions qui y sont exprimées appartiennent à l'Initiative. Veuillez transmettre vos questions et vos commentaires à :

Division de EMC
WHO
20, avenue Appia
CH-1211
Genève



Logo conçu par PATH