



Contents

- 37 Detection of influenza virus subtype A by polymerase chain reaction: WHO external quality assessment programme summary analysis, 2013

Sommaire

- 37 Récapitulatif de l'évaluation externe de la qualité de la détection des virus grippaux de type A par amplification génique, 2013

Detection of influenza virus subtype A by polymerase chain reaction: WHO external quality assessment programme summary analysis, 2013

Introduction

Global influenza virological surveillance has been conducted through the WHO Global Influenza Surveillance and Response System (GISRS) for over 60 years.¹ Currently 141 institutions in 111 Member States are recognized by WHO as National Influenza Centres (NICs). The laboratory network also comprises 6 WHO Collaborating Centres, 4 WHO Essential Regulatory Laboratories and ad hoc groups convened to address specific emerging issues.

Given the continuously evolving nature of influenza viruses and their ability to cause occasional human infections with pandemic potential, timely surveillance and robust laboratory diagnostics are essential. The WHO external quality assessment programme (EQAP) for influenza virus subtype A by polymerase chain reaction (PCR) was initiated in 2007, aiming to monitor the quality and comparability of the performance of participating laboratories in routine molecular diagnosis and surveillance. The EQAP has extended its scope from avian influenza A (H5N1) to seasonal and other emerging influenza viruses, including both circulating human and non-human viruses reported in human infections. Summaries of the performance of participating laboratories from panels 1 to 11 (2007 to 2012) have been reported in the *Weekly Epidemiological Record*.²⁻⁶

Récapitulatif de l'évaluation externe de la qualité de la détection des virus grippaux de type A par amplification génique, 2013

Introduction

Depuis plus de 60 ans, le Système mondial OMS de surveillance de la grippe et de riposte (GISRS) assure la surveillance virologique de la grippe au niveau mondial.¹ On compte actuellement dans 111 États Membres 141 institutions reconnues par l'OMS comme Centres nationaux de la grippe (CNG). Le réseau de laboratoires comprend aussi 6 centres collaborateurs de l'OMS, 4 Laboratoires essentiels de réglementation et des groupes spéciaux mis en place pour s'occuper des questions émergentes spécifiques.

Compte tenu de l'évolution permanente des virus grippaux et de leur capacité à provoquer des infections humaines occasionnelles présentant un potentiel pandémique, il est indispensable de maintenir une surveillance en temps utile et des capacités de diagnostic solides dans les laboratoires. Le programme d'évaluation externe de la qualité (EQAP) de l'OMS pour la détection des virus grippaux de type A par amplification génique (PCR) a été lancé en 2007; il vise à suivre la qualité et la comparabilité des résultats des laboratoires participant au diagnostic moléculaire et à la surveillance de routine. L'EQAP a étendu son champ d'action du virus de la grippe aviaire A(H5N1) aux virus saisonniers et émergents, incluant ainsi à la fois les virus circulant chez l'homme et des virus non humains signalés dans des infections humaines. Des résumés des résultats des laboratoires participants pour les séries 1 à 11 (2007 à 2012) ont été publiés dans le *Relevé épidémiologique hebdomadaire*.²⁻⁶

WORLD HEALTH
ORGANIZATION
Geneva

ORGANISATION MONDIALE
DE LA SANTÉ
Genève

Annual subscription / Abonnement annuel
Sw. fr. / Fr. s. 346.–

01.2014
ISSN 0049-8114
Printed in Switzerland

¹ See http://www.who.int/influenza/gisrs_laboratory/en/

² See No. 45, 2008, pp. 401–412.

³ See No. 48, 2009, pp. 493–504.

⁴ See No. 3, 2011, pp. 17–24.

⁵ See No. 3, 2012, pp. 29–36.

⁶ See No. 4, 2013, pp. 37–48.

¹ Voir http://www.who.int/influenza/gisrs_laboratory/en/

² Voir N° 45, 2008, pp. 401–412.

³ Voir N° 48, 2009, pp. 493–504.

⁴ Voir N° 3, 2011, pp. 17–24.

⁵ Voir N° 3, 2012, pp. 29–36.

⁶ Voir N° 4, 2013, pp. 37–48.

In 2013, the project continued under the coordination of the WHO Global Influenza Programme, implemented by the WHO H5 Reference Laboratory and National Influenza Centre at the Centre for Health Protection, China, Hong Kong Special Administration Region (Hong Kong SAR), and with support from WHO Collaborating Centres (CCs) for Reference and Research on Influenza, other WHO H5 reference laboratories and WHO regional offices.

The programme currently dispatches samples for testing once per year. This report summarizes the results of the assessment of panel 12, which was dispatched to participating laboratories between April 2013 and June 2013. In view of the continuous detection of influenza A(H1N1) viruses with highly reduced oseltamivir inhibition due to neuraminidase (NA)-H275Y substitution, a pilot run of genotypic NA inhibitor (NAI) susceptibility testing was also included.

Preparation of panel

Vacuum-dried beta-propiolactone inactivated influenza viruses were dispatched to participating laboratories. Viruses were grown in Madin-Darby canine kidney (MDCK) cells, inactivated by beta-propiolactone, and then prepared as described previously.²⁻⁶

Composition of panel

Panel 12 consisted of 10 coded samples, represented by different concentrations of influenza viruses, including influenza A(H5N1) genetic clade 2.3.2.1, A(H3N2), A(H1N1)pdm09 with H275Y substitution, A(H9N2), and influenza B viruses (Victoria and Yamagata lineages). A sample that contained no virus was included in this panel. Details of the composition of the panel are shown in *Table 1*. Participants were instructed to reconstitute each sample with PCR-grade water prior to testing. A questionnaire on the methods of detection, gene targets and future development of EQAP used was also included.

Distribution of panel and response of participants

NICs and other national influenza laboratories were invited to participate before the panels were dispatched. Panel 12 was dispatched between April 2013 and June 2013, at ambient temperature by courier service, from the WHO H5 Reference Laboratory and National Influenza Centre at the Centre for Health Protection in Hong Kong SAR to 179 participating laboratories from 140 countries in the 6 WHO Regions as previously described.²⁻⁶ Among 175 participating laboratories which received the panel, 126/175 (72%) laboratories received samples within 1 week of dispatch.

In panel 12, participating laboratories were requested to report results within 4 weeks after the date of sample reception, rather than 36 days after sample dispatch as for the previous panels. The number of participating laboratories reporting results before the closing date in panel 12 and panel 11 were 158/175 (90.3%) and 163/170 (95.9%) respectively.

En 2013, le projet s'est poursuivi sous la coordination du Programme mondial de lutte contre la grippe de l'OMS, et il a été mis en œuvre par le Laboratoire de référence H5 et Centre national de la grippe au Centre de protection sanitaire de Hong Kong (Région administrative spéciale (RAS) de la Chine), avec l'appui de centres collaborateurs de référence et de recherche de l'OMS sur la grippe, d'autres laboratoires de référence H5 de l'OMS et des bureaux régionaux de l'Organisation.

Le programme prévoit actuellement l'expédition d'échantillons pour des tests une fois par an. Le présent rapport récapitule les résultats de l'évaluation de la 12^e série, qui a été distribuée aux laboratoires participants entre avril et juin 2013. Suite à la détection continue de virus grippaux A(H1N1) porteurs de la substitution (NA)-H275Y sur la neuraminidase, qui s'associe à une forte réduction de l'inhibition par l'oseltamivir, un essai pilote du test génotypique de la sensibilité à l'inhibiteur de la NA (INA) a aussi été inclus.

Préparation de la série

Après inactivation par la bêta-propiolactone et dessiccation sous vide, des virus grippaux ont été envoyés aux laboratoires participants. Ces virus ont été cultivés sur des cellules rénales canines Madin-Darby (MDCK), inactivés par la bêta-propiolactone, puis préparés comme décrit précédemment.²⁻⁶

Composition de la série

La 12^e série comportait 10 échantillons codés, correspondant à différentes concentrations de virus grippaux, dont des virus grippaux A(H5N1) du clade génétique 2.3.2.1, des virus A(H3N2), A(H1N1)pdm09 portant la substitution H275Y, des virus A(H9N2) et des virus grippaux B (lignées Victoria et Yamagata). Un échantillon ne contenant aucun virus a également été inclus. La composition de la série est présentée en détail au *Tableau 1*. Les participants ont reçu l'instruction de reconstituer chaque échantillon avec de l'eau ayant la qualité requise pour la PCR avant de l'analyser. Un questionnaire portant sur les méthodes de détection, les cibles géniques et l'évolution future de l'EQAP a été joint.

Distribution de la série d'échantillons et réponse des participants

Les CNG et d'autres laboratoires nationaux de la grippe ont été invités à participer au programme avant l'expédition de la série. Le Laboratoire de référence H5 et Centre national de la grippe du Centre de protection sanitaire de la RAS de Hong Kong a envoyé les échantillons de la 12^e série à température ambiante par un service d'acheminement rapide aux 179 laboratoires participants situés dans 140 pays appartenant aux 6 Régions de l'OMS, comme nous l'avons décrit précédemment.²⁻⁶ Sur les 175 laboratoires participants ayant reçu la série, 126/175 (72%) ont reçu les échantillons dans un délai inférieur à une semaine après l'expédition.

Pour la 12^e série, il a été demandé aux laboratoires participants de transmettre leurs résultats dans un délai maximum de 4 semaines après la date de réception des échantillons, contre 36 jours auparavant. Le nombre de laboratoires participants ayant fourni des résultats avant la date de clôture a été pour la 12^e série et la 11^e série de 158/175 (90,3%) et 163/170 (95,9%) respectivement.

Table 1 **Panel composition and results of the WHO external quality assessment programme of National Influenza Centres and other laboratories to detect influenza A and B viruses, panel 12 (2013)**

Tableau 1 **Composition de la série et résultats de l'évaluation externe de la qualité de la détection des virus grippaux A et B par les centres nationaux de la grippe et autres laboratoires, 12^e série (2013)**

Influenza viruses – Virus grippaux	Strain/Clade ^a – Souche/Clade ^a	Sample number – Numéro de l'échantillon	Copies/μl ^b – Copies/μl ^b	No. (%) of laboratories correctly identifying sample (n=158) – Nombre (%) de laboratoires identifiant correctement l'échantillon (n=158)
A(H5N1)	2.3.2.1	V01-2013	7.62	145 (91.8)
A(H5N1)	2.3.2.1	V04-2013	7.27	144 (91.1)
A(H5N1)	2.3.2.1	V05-2013	1.13 x 10 ²	153 (96.8)
A(H5N1)	2.3.2.1	V10-2013	9.21 x 10 ¹	152 (96.2)
A(H1N1)pdm09*	A/California/7/2009-like virus – Virus analogues à A/California/7/2009	V09-2013	6.82 x 10 ²	154 (97.5)
A(H3N2)	A/Victoria/361/2011-like virus – Virus analogues à A/Victoria/361/2011	V07-2013	3.29 x 10 ¹	155 (98.1)
A(H9N2)	A/Hong Kong/35820/2009	V06-2013	8.63	152 (96.2)
Influenza B – Grippe B	B/Brisbane/60/2008-like (Victoria lineage) virus – Virus analogues à B/Brisbane/60/2008 (lignée Victoria)	V02-2013	6.94 x 10 ²	153 (96.8)
Influenza B – Grippe B	B/Wisconsin/1/2010-like (Yamagata lineage) virus – Virus analogues à B/Wisconsin/1/2010 (lignée Yamagata)	V08-2013	3.68 x 10 ²	151 (95.6)
Negative – Négatif	NA – SO	V03-2013	NA – SO	154 (97.5)

^a The nomenclature of A(H5N1) was based on the HA gene. For additional information, see http://www.who.int/influenza/gisrs_laboratory/h5n1_nomenclature/en/ – La nomenclature des virus A(H5N1) est basée sur le gène HA. Pour en savoir plus, voir http://www.who.int/influenza/gisrs_laboratory/h5n1_nomenclature/en/

^b Measured by real-time RT-PCR after 5 days of storage of inactivated virus at 25°C. – Mesuré par PCR en temps réel après 5 jours de conservation de l'ARN viral à 25°C.

* With nucleotide change detected (C823T) in the NA gene as H275Y amino acid substitution associated with highly reduced neuraminidase inhibition by oseltamivir. – Avec détection de la modification nucléotidique (C823T) sur le gène NA correspondant à la substitution de l'acide aminé H275Y associée à une forte réduction de l'inhibition de la neuraminidase par l'oseltamivir.

NA: Not applicable. – SO: Sans objet.

Methods of detection

There was considerable variation in testing strategies and PCR protocols used by participating laboratories to screen for influenza type A and B viruses and subtype A(H1)pdm09, A(H3), A(H5) and A(H9) viruses, as also noted for previous panels.²⁻⁶ More than half of the participants used CDC Atlanta protocols. There was little difference in test results despite the use of different PCR protocols. Details on target genes, detection methods and source of primers/probes and enzymes used were included in the summary report of performance which was distributed to all participants.

Results on the performance of laboratories

Only laboratories returning results within the designated closing date were included in the analysis of

Méthodes de détection

Comme pour les séries précédentes, les stratégies de détection et les protocoles de PCR utilisés par les laboratoires participants pour rechercher les virus grippaux des types A et B et les virus des sous-types A(H1)pdm09, A(H3), A(H5) et A(H9) ont été très variés.²⁻⁶ Plus de la moitié des participants ont appliqué les protocoles des *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) d'Atlanta. Il y a eu peu de différences dans les résultats des tests, malgré l'utilisation de protocoles de PCR différents. Des détails sur les gènes ciblés, les méthodes de détection et l'origine des amorces/sondes et enzymes utilisés ont été inclus dans le rapport récapitulatif de résultats distribué à tous les participants.

Résultats des laboratoires

Seuls les laboratoires rendant des résultats avant la date de clôture prévue ont été inclus dans l'analyse des résultats. Selon

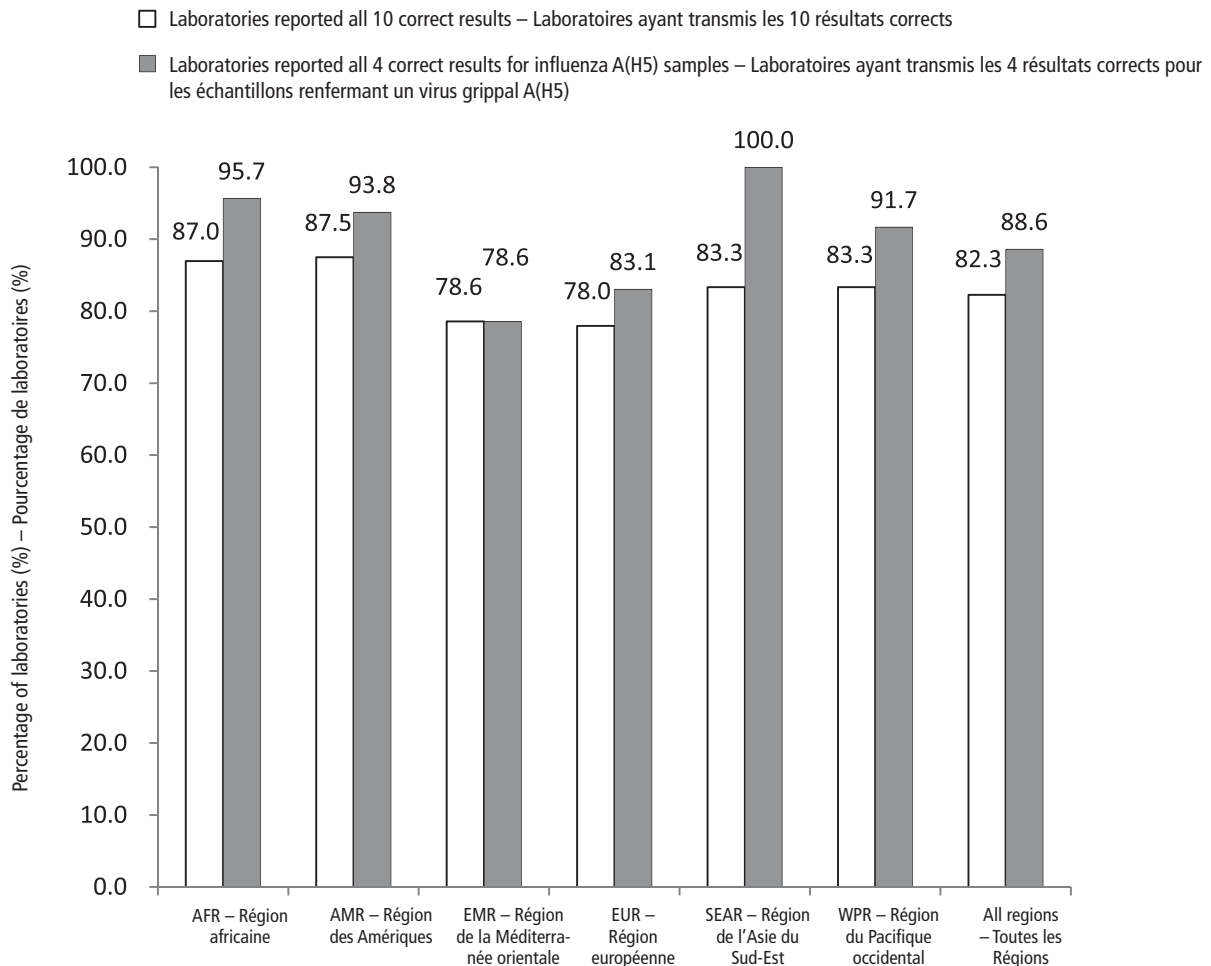
results. Based on the same assessment criteria for panels 1–11,^{2–6} 130/158 (82.3%) participating laboratories returned correct results for all the 10 samples. All 4 influenza A(H5) samples were correctly identified by 140 (88.6%) participants. The performance of participating laboratories by WHO Region is shown in *Figure 1* and the comparison of laboratories' performance for all panels is shown in *Figure 2*.

Three different influenza A(H5N1) viruses were included. The first (V01-2013) was a human virus; the rate of correct detection was 145/158 (91.8%). The second (V05-2013) was an avian virus, including also a 10-fold diluted sample (V04-2013); the rates of correct detection

les mêmes critères d'évaluation que pour les séries 1 à 11,^{2–6} 130 laboratoires participants sur 158 (82,3%) ont transmis des résultats corrects pour la totalité des 10 échantillons et 140 (88,6%) ont correctement identifié les 4 échantillons de virus grippaux A(H5). Les résultats des laboratoires participants dans les différentes Régions de l'OMS sont présentés dans la *Figure 1*, tandis que la *Figure 2* donne la comparaison des résultats des laboratoires pour l'ensemble des séries.

Trois virus grippaux A(H5N1) différents ont été inclus. Le premier (V01-2013) était un virus humain: le taux de détection correcte a été de 145/158 (91,8%). Le deuxième (V05-2013) était un virus aviaire, avec aussi un échantillon du même virus dilué 10 fois (V04-2013): les taux de détection correcte ont été de

Figure 1 Performance of participating laboratories in the external quality assessment programme, panel 12 (2013), by WHO Region
 Figure 1 Résultats de l'évaluation externe de la qualité des analyses pratiquées par les laboratoires participants, 12^e série (2013), par Région OMS

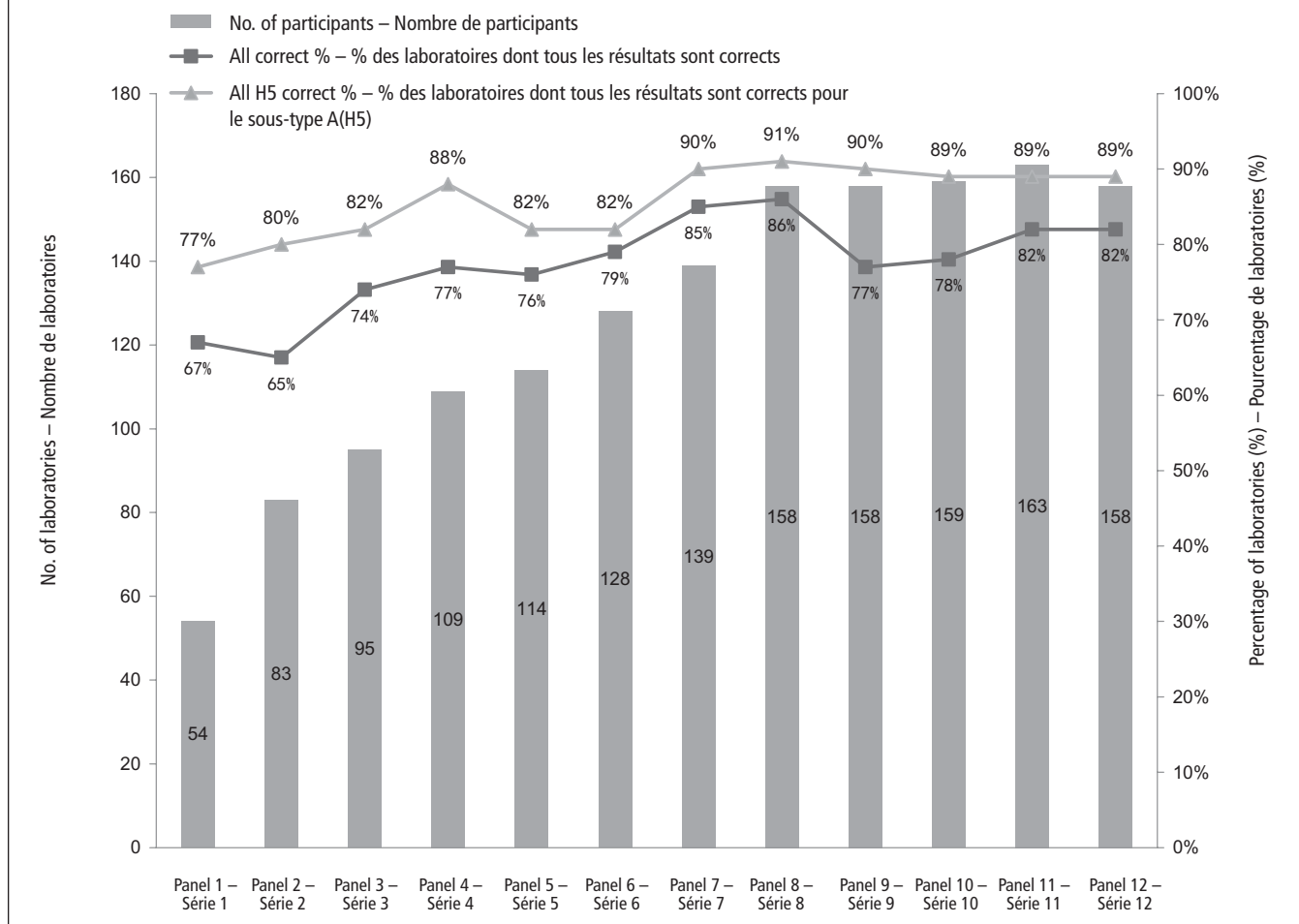


Number of laboratories – Nombre de laboratoires

Reported all 10 correct results – Transmission des 10 résultats corrects	20	28	11	46	5	20	130
Reported all 4 correct results for Influenza A(H5) samples – Transmission des 4 résultats corrects pour les échantillons de virus A(H5)	22	30	11	49	6	22	140
Participated in EQAP panel 12 – Participation à la 12 ^e série de l'EQAP	23	32	14	59	6	24	158

Figure 2 Performance of laboratories participating in the WHO external quality assessment programme for detection of influenza A and B viruses, panels 1-12, 2007-2013

Figure 2 Résultats des laboratoires participant au programme OMS d'évaluation externe de la qualité de la détection des virus grippaux A et B, séries 1 à 12, 2007-2013



were 153/158 (96.8%) and 144/158 (91.1%) respectively. The third (V10-2013) was another avian virus for which the rate of correct detection was 152/158 (96.2%).

For the influenza A(H1N1)pdm09 sample (V09-2013) and A(H3N2) sample (V07-2013), 154/158 (97.5%) and 155/158 (98.1%) laboratories reported correct results respectively. For the influenza B samples, the rates of correct detection for the Victoria lineage virus (V02-2013) and Yamagata lineage virus (V08-2013) were 153/158 (96.8%) and 151/158 (95.6%) respectively.

For the less commonly recognized influenza A(H9N2) virus (V06-2013), 47/158 (29.7%) and 105/158 (66.5%) participants correctly reported it as influenza A(H9) and influenza A untypable respectively, with the overall rate of correct reporting of 152/158 (96.2%). Four participating laboratories reported positive results for the negative sample (V03-2013) and the false-positive rate was 2.5% (Table 1).

In this panel, 28/158 (17.7%) participants reported incorrect results. Altogether 7/158 (4.4%) participants returned 1 incorrect result and 21/158 (13.3%) returned

153/158 (96,8%) et de 144/158 (91,1%) respectivement. Le troisième (V10-2013) était un autre virus aviaire, pour lequel le taux de détection correcte s'est établi à 152/158 (96,2%).

Pour l'échantillon contenant le virus grippal A(H1N1)pdm09 (V09-2013) et celui contenant le virus A(H3N2) (V07-2013), 154 laboratoires sur 158 (97,5%) et 155 laboratoires sur 158 (98,1%) ont transmis des résultats corrects respectivement. Pour ce qui est des échantillons contenant des virus grippaux B, les taux de détection correcte pour le virus de la lignée Victoria (V02-2013) et pour le virus de la lignée Yamagata (V08-2013) ont été de 153/158 (96,8%) et 151/158 (95,6%) respectivement.

Pour le virus grippal A(H9N2) moins courant (V06-2013), 47 participants sur 158 (29,7%) ont correctement indiqué qu'il s'agissait d'un virus grippal A(H9) et 105 participants sur 158 (66,5%) que c'était un virus grippal A impossible à typer, le taux global de réponses correctes s'établissant à 152/158 (96,2%). Quatre laboratoires participants ont transmis des résultats positifs pour l'échantillon négatif (V03-2013), ce qui donne un taux de faux-positifs de 2,5% (Tableau 1).

Dans cette série, 28 participants sur 158 (17,7%) ont transmis des résultats incorrects. En tout, 7 participants sur 158 (4,4%) ont rendu un résultat incorrect et 21 sur 158 (13,3%) plus d'un

more than 1 incorrect result (Table 2). The details are presented in Table 3.

Genotypic neuraminidase inhibitor (NAI) susceptibility testing

In this pilot run of NAI susceptibility testing, 44 (27.8%) participants performed genotypic susceptibility test(s) on the A(H1)pdm09 sample (V09-2013) on an optional basis. The 3 most common methodologies were Sanger sequencing ($n=25$, 57%), allelic discrimination by real-time RT-PCR ($n=20$, 45%), and pyrosequencing ($n=5$, 11%); some participants reported using more than one method. Of the 44 participants, 43 (97.7%) correctly reported the results as nucleotide change detected (C823T) in the NA gene as H275Y amino acid substitution, associated with highly reduced neuraminidase inhibition by oseltamivir.

résultat incorrect (Tableau 2). Les détails se trouvent dans le Tableau 3.

Test génotypique de la sensibilité à l'inhibiteur de la neuraminidase (INA)

Dans le cadre de cet essai pilote du test de sensibilité à l'INA, 44 participants (27,8%) ont procédé, sur une base facultative, à des tests génotypiques de la sensibilité sur l'échantillon du virus A(H1)pdm09 (V09-2013). Les 3 méthodes les plus couramment utilisées ont été: le séquençage Sanger ($n=25$, 57%); la discrimination allélique par RT-PCR ($n=20$, 45%); et le pyroséquençage ($n=5$, 11%), certains participants indiquant qu'ils ont utilisé plus d'une méthode. Sur les 44 participants, 43 (97,7%) ont transmis des résultats corrects signalant la détection d'une modification nucléotidique (C823T) dans le gène NA, correspondant à la substitution de l'acide aminé H275Y, associée à une forte réduction de l'inhibition de la neuraminidase par l'oseltamivir.

Table 2 Performance of participating laboratories in external quality assessment programme, panel 12 (2013)

Table 2 Résultats des laboratoires participant au programme d'évaluation externe de la qualité, 12^e série (2013)

Performance – Résultats	No. (%) of laboratories ($n=158$) – Nombre (%) de laboratoires ($n=158$)
10 samples correct – 10 échantillons corrects	130 (82.3)
9 samples correct – 9 échantillons corrects	7 (4.4)
6–8 samples correct – 6-8 échantillons corrects	19 (12.0)
<6 samples correct – <6 échantillons corrects	2 (1.3)

Table 3 Details of incorrect results reported by participating laboratories in external quality assessment programme, panel 12 (2013)

Tableau 3 Détails des résultats incorrects rendus par les laboratoires participant au programme d'évaluation externe de la qualité, 12^e série (2013)

Samples – Échantillons	Number of participants – Nombre de participants						
	Reporting as another type/subtype – Indiquant un autre type/sous-type			Reporting as H5 negative – Réponse négative pour le sous-type A(H5)			
V01-2013	0			10			
V04-2013	2 [A(H7), Flu B] – 2 [A(H7), Grippe B]			10			
V05-2013	0			2			
V10-2013	1 [A(H1)pdm09]			3			
Reporting – Réponse							
Non-influenza A(H5) – Virus grippaux non A(H5)	A(H3)	A(H3)v	A(H5)	A(H7)	Flu A (untyped) – Grippe A (non typée)	Flu B – Grippe B	Negative – Négatif
V02-2013 [Flu B] – V02-2013 [Grippe B]	0	0	0	0	0	NA	5
V03-2013 [Negative] – V03-2013 [Négatif]	0	0	0	0	2	2	NA
V06-2013 [A(H9)]	0	1	0	0	1	0	4
V07-2013 [A(H3)]	NA	0	0	1	0	0	2
V08-2013 [Flu B] – V08-2013 [Grippe B]	0	0	0	0	0	NA	7
V09-2013 [A(H1)pdm09]	0	0	1	0	3	0	0

NA: not applicable. – SO: sans objet.

Discussion

The number of laboratories participating in the EQAP remained fairly stable at around 158 since panel 8 in 2010. The all-correct rate increased from 77% in panel 9 where gamma-ray inactivated viruses requiring an extraction step were first introduced, to 82% in panel 12 where all virus samples were inactivated by beta-propiolactone. For influenza A(H5) detection, the all-correct rate remained stable at around 89% in the 6 recent panels.

Among 156 participating laboratories reporting H5 subtyping results in panel 12, 139 out of 150 laboratories using real-time RT-PCR reported all correct H5 results. In contrast, 5 of 6 participants using conventional PCR alone reported unsubtypable influenza A for one or more H5 samples. The difference in performance was statistically significant ($p < 0.01$; Fisher's exact test). The reduced sensitivity could be partly attributed to suboptimal primer annealing. Primer mismatch at the 3' terminal was noted in 3 of these H5 conventional PCR protocols. Similarly, 2 participants using real-time RT-PCR with probe mismatch at the 3' terminal also reported unsubtypable results. This highlights the importance of continuing review and revision of the testing protocols. Inclusion of viruses from other H5 clades would be considered for inclusion in future panels to monitor the sensitivity and specificity of the testing protocols.

Results of influenza A(H9) subtyping from this panel reflected the increased proficiency in detecting less commonly circulating influenza viruses. The rate of incorrect results for H9 subtyping decreased from 18.4% (30/163) in panel 11 to 3.8% (6/158) in this panel. Concurrent with the emergence of avian influenza A(H7N9) infection reported in humans, there was a significant increase in the number of participants performing influenza A(H7) subtyping in panel 12, at 17.7% (28/158), as compared with 8.0% (13/163) in panel 11. On the other hand, such enhanced H7 testing also contributed to incorrect reports of subtyping of influenza A(H5), V04-2013, and influenza A(H3), V07-2013, as influenza A(H7) and co-infection with influenza A(H7) respectively. In recent panels, the simultaneous use of NA subtyping or sequencing in identifying less commonly circulating or unsubtypable influenza viruses was noted. As shown in the response to one of the survey questions of this panel, 94 (59.5%) participants indicated that unsubtyped influenza A viruses would be sent to WHO CCs for characterization in a timely manner.

In the pilot run of genotypic NAI susceptibility testing, 44/158 (27.8%) of participants reported results and 43/44 (97.7%) correctly reported NA-H275Y substitution associated with highly reduced inhibition to oseltamivir. Five participants also reported the M2-S31N substitution. The majority of the participants used 1 of the 3 genotypic methodologies recommended by WHO GISRS. Additional substitution sites and information on percentage of substitution was reported by participants using Sanger sequencing or pyrosequencing. In view of

Discussion

Le nombre de laboratoires participant à l'EQAP est resté assez stable, autour de 158, depuis la 8^e série en 2010. Le taux de réponses correctes à 100% est passé de 77% à la 9^e série, lorsque des virus inactivés par exposition aux rayons gamma ont été introduits pour la première fois et nécessitaient une étape d'extraction, à 82% à la 12^e série pour laquelle tous les virus ont été inactivés par la bêta-propiolactone. Pour la détection des virus grippaux A(H5), le taux de réponses correctes à 100% est resté stable à environ 89% pour les 6 dernières séries.

Sur les 156 laboratoires participants ayant transmis des résultats du sous-typage du virus H5 pour la 12^e série, 139 sur 150 utilisant la RT-PCR en temps réel ont rendu des résultats corrects à 100%. Par contre, 5 des 6 participants utilisant seulement la PCR classique ont rendu comme résultat des virus grippaux A impossibles à typer pour au moins un des échantillons A(H5). Cette différence a été statistiquement significative ($p < 0.01$; test exact de Fisher). La sensibilité réduite pourrait être en partie due à une hybridation de l'amorce qui n'a pas été optimale. On a constaté un mauvais appariement de l'amorce à l'extrémité 3' pour 3 de ces protocoles classiques de PCR. De même, 2 participants utilisant la RT-PCR en temps réel, avec un mauvais appariement de la sonde sur l'extrémité 3', ont également rendu comme résultat l'impossibilité du typage. Cela souligne l'importance de l'examen continué des protocoles d'analyse avec leur révision le cas échéant. L'inclusion de virus H5 provenant d'autres clades sera envisagée pour inclusion dans les prochaines séries pour suivre la sensibilité et la spécificité des protocoles d'analyse.

Les résultats du sous-typage des virus grippaux A(H9) dans cette série traduisent le renforcement de l'aptitude à la détection des virus grippaux en circulation moins fréquents. Le taux de résultats incorrects pour le sous-typage des virus H9 a été ramené de 18,4% (30/163) dans la 11^e série à 3,8% (6/158) dans cette série. Parallèlement à l'émergence de l'infection à virus A(H7N9) de la grippe aviaire chez l'homme, on a observé pour la 12^e série une hausse significative du nombre des participants procédant au sous-typage des virus A(H7): 17,7% (28/158), contre 8,0% (13/163) dans la 11^e série. D'un autre côté, ce renforcement des tests sur les virus H7 a aussi contribué à la transmission d'erreurs de sous-typage des virus grippaux A(H5), V04-2013, et A(H3), V07-2013, indiqués à tort comme étant la grippe A(H7) et la co-infection avec la grippe A(H7) respectivement. Dans les dernières séries, on a relevé l'utilisation simultanée du sous-typage de la NA ou du séquençage pour identifier les virus grippaux en circulation moins fréquents ou impossibles à typer. Comme le montre la réponse à l'une des questions de l'enquête pour cette série, 94 participants (59,5%) ont indiqué qu'ils enverraient rapidement les virus grippaux A impossibles à typer aux centres collaborateurs de l'OMS pour en obtenir la caractérisation.

Dans l'essai pilote du test génotypique de la sensibilité à l'INA, 44 participants sur 158 (27,8%) ont transmis des résultats et 43 sur 44 (97,7%) ont mis correctement en évidence la substitution NA-H275Y associée à une forte réduction de l'inhibition par l'oseltamivir. Cinq participants ont également signalé la substitution M2-S31N. Dans leur majorité, les participants ont utilisé l'une des 3 méthodes de génotypage préconisées par le GISRS. Des sites supplémentaires de substitution et des informations sur le pourcentage de substitution ont été donnés par les participants utilisant le séquençage Sanger et le pyroséquen-

the growing importance of antiviral susceptibility surveillance, WHO EQAP will explore the continued inclusion of samples to gauge the proficiency of the molecular methods used in NAI susceptibility testing.

In order to continually enhance the quality and standard of global capacity in diagnosis and surveillance of influenza viruses, NICs and other national influenza laboratories are encouraged to continue their participation in the WHO Influenza EQAP. ■

çage respectivement. Compte tenu de l'importance croissante de la surveillance de la sensibilité aux médicaments antiviraux, le programme EQAP de l'OMS examinera la possibilité d'inclure continuellement des échantillons pour évaluer les capacités des méthodes moléculaires utilisées pour les tests de sensibilité à l'INA.

Afin de renforcer continuellement la qualité et les normes de la capacité mondiale de diagnostic et de surveillance des virus grippaux, les CNG et les autres laboratoires nationaux travaillant sur la grippe sont invités à poursuivre leur participation au programme EQAP de l'OMS. ■

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

Avian influenza	http://www.who.int/csr/disease/avian_influenza/en/	Grippe aviaire
Buruli ulcer	http://www.who.int/buruli/en/	Ulcère de Buruli
Child and adolescent health and development	http://www.who.int/child_adolescent_health/en/	Santé et développement des enfants et des adolescents
Cholera	http://www.who.int/cholera/en/	Choléra
Deliberate use of biological and chemical agents	http://www.who.int/csr/delibepidemics/informationresources/en/	Usage délibéré d'agents chimiques et biologiques
Dengue (DengueNet)	http://apps.who.int/globalatlas/	Dengue (DengueNet)
Epidemic and pandemic surveillance and response	http://www.who.int/csr/en/	Alerte et action en cas d'épidémie et de pandémie
Eradication/elimination programmes	http://www.who.int/infectious-disease-news/	Programmes d'éradication/élimination
Filariasis	http://www.filariasis.org	Filariose
Geographical information systems (GIS)	http://gamapserver.who.int/mapLibrary/	Systèmes d'information géographique
Global atlas of infectious diseases	http://apps.who.int/globalatlas/	Atlas mondial des maladies infectieuses
Global Outbreak Alert and Response Network (GOARN)	http://www.who.int/csr/outbreaknetwork/en/	Réseau mondial d'alerte et d'action en cas d'épidémie (GOARN)
Health topics	http://www.who.int/topics/en	La santé de A à Z
Influenza	http://www.who.int/csr/disease/influenza/en/	Grippe
Influenza network (FluNet)	http://who.int/flunet	Réseau grippe (FluNet)
International Health Regulations	http://www.who.int/ihr/en/	Règlement sanitaire international
International travel and health	http://www.who.int/ith/en/	Voyages internationaux et santé
Intestinal parasites	http://www.who.int/topics/intestinal_diseases_parasitic/en/	Parasites intestinaux
Leishmaniasis	http://www.who.int/leishmaniasis/en/	Leishmaniose
Leprosy	http://www.who.int/lep/en/	Lèpre
Lymphatic filariasis	http://www.who.int/lymphatic_filariasis/en/	Filariose lymphatique
Malaria	http://www.who.int/malaria/en/	Paludisme
Neglected tropical diseases	http://www.who.int/neglected_diseases/en/	Maladies tropicales négligées
Outbreak news	http://www.who.int/csr/don/en/	Flambées d'épidémies
Poliomyelitis	http://www.polioeradication.org/casecount.asp	Poliomyélite
Rabies network (RABNET)	http://www.who.int/rabies/en/	Réseau rage (RABNET)
Report on infectious diseases	http://www.who.int/infectious-disease-report/	Rapport sur les maladies infectieuses
Global Foodborne Infections Network (GFN)	http://www.who.int/gfn/en/	Réseau mondial d'infections d'origine alimentaire
Smallpox	http://www.who.int/csr/disease/smallpox/en/	Variole
Schistosomiasis	http://www.who.int/schistosomiasis/en/	Schistosomiase
Tropical disease research	http://www.who.int/tdr/	Recherche sur les maladies tropicales
Tuberculosis	http://www.who.int/tb/en and/et http://www.stoptb.org	Tuberculose
Immunization, Vaccines and Biologicals	http://www.who.int/immunization/en/	Vaccination, Vaccins et Biologiques
Weekly Epidemiological Record	http://www.who.int/wer/	Relevé épidémiologique hebdomadaire
WHO Lyon Office for National Epidemic Preparedness and Response	http://www.who.int/ihr/lyon/en/index.html	Bureau OMS de Lyon pour la préparation et la réponse des pays aux épidémies
WHO Pesticide Evaluation Scheme (WHOPES)	http://www.who.int/whopes/en/	Schéma OMS d'évaluation des pesticides (WHOPES)
WHO Mediterranean Centre for Vulnerability Reduction, Tunis	http://wmc.who.int/	Centre Méditerranéen de l'OMS pour la Réduction de la Vulnérabilité à Tunis (WMC)
Yellow fever	http://www.who.int/csr/disease/yellowfev/en/	Fièvre jaune