



Contents

- 9 Detection of influenza virus subtype A by polymerase chain reaction: WHO external quality assessment programme summary analysis, 2014

Sommaire

- 9 Récapitulatif de l'évaluation externe de la qualité de la détection des virus grippaux de type A par amplification génique, 2014

Detection of influenza virus subtype A by polymerase chain reaction: WHO external quality assessment programme summary analysis, 2014

Introduction

Global influenza virus surveillance has been coordinated by WHO for over 60 years. It is conducted through the WHO Global Influenza Surveillance and Response System (GISRS)¹ and currently includes 142 institutions in 112 Member States recognized by WHO as National Influenza Centres (NICs). The laboratory network also comprises 6 WHO Collaborating Centres, 4 Essential Regulatory Laboratories and ad hoc groups established to address specific emerging issues.

Given the continuous evolution and the pandemic potential of some non-seasonal influenza viruses, timely surveillance and reliable laboratory diagnostics are essential. The WHO external quality assessment programme (EQAP) for diagnosis of influenza virus subtype A by polymerase chain reaction (PCR) was initiated in 2007, in order to monitor the quality and comparability of the performance of participating laboratories in routine molecular diagnosis and surveillance. The scope of EQAP has been extended to include, in addition to influenza A(H5N1) and seasonal influenza A, influenza B and other non-seasonal influenza A viruses reported in human infections. Summaries of the performance of participating laboratories from Panels 1 to 12 (2007 to 2013) have been reported in the *Weekly Epidemiological Record*.²⁻⁷

Récapitulatif de l'évaluation externe de la qualité de la détection des virus grippaux de type A par amplification génique, 2014

Introduction

Depuis plus de 60 ans, l'OMS coordonne la surveillance des virus grippaux au niveau mondial, grâce au Système mondial OMS de surveillance de la grippe et de riposte (GISRS)¹ comptant actuellement dans 112 États Membres 142 institutions reconnues par l'OMS comme Centres nationaux de la grippe (CNG). Le réseau de laboratoires comprend également 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 continue et du potentiel pandémique de certains virus grippaux non saisonniers, la surveillance en temps utile et les diagnostics fiables en laboratoire sont essentiels. Le programme d'évaluation externe de la qualité (EQAP) de l'OMS pour le diagnostic des virus grippaux de type A par amplification génique (PCR) a démarré en 2007, pour suivre la qualité et la comparabilité des résultats des laboratoires participant au diagnostic moléculaire et à la surveillance de routine. Le champ d'action de l'EQAP s'est élargi pour inclure, en plus de la grippe A(H5N1) et des virus grippaux A saisonniers, la grippe B et d'autres virus grippaux A non saisonniers signalés dans des infections humaines. Des résumés des résultats des laboratoires participants pour les séries 1 à 12 (2007 à 2013) ont été publiés dans le *Relevé épidémiologique hebdomadaire*.²⁻⁷

WORLD HEALTH
ORGANIZATION
Geneva

ORGANISATION MONDIALE
DE LA SANTÉ
Genève

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

01.2015
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.

⁷ See No. 4/5, 2014, pp. 37–44.

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.

⁷ Voir N° 4/5, 2014, pp. 37–44.

In 2014, the project continued under the coordination of WHO's Global Influenza Programme, implemented by the H5 Reference Laboratory and National Influenza Centre at the Centre for Health Protection, Department of Health, Hong Kong Special Administrative Region (SAR), China, with support from WHO regional offices.

The programme currently dispatches samples for testing once per year. This report summarizes the results of Panel 13, which was dispatched to participating laboratories between April and June 2014. Genotypic neuraminidase inhibitor (NAI) susceptibility testing for influenza A(H1N1) viruses was also included on an optional basis.

Preparation of panel

Vacuum-dried triton X-100 inactivated influenza viruses were dispatched to participating laboratories. Viruses were grown in Madin-Darby canine kidney (MDCK) cells, inactivated by triton X-100, and then prepared as described previously.²⁻⁷

Composition of panel

Panel 13 consisted of 10 coded samples, with different concentrations of influenza viruses, including influenza A(H5N1) of genetic clade 2.2 and 2.3.2.1, A(H3N2), A(H1N1)pdm09 with NA H275Y substitution, and with a mixture of NA 275H/Y, A(H7N9) and influenza B virus (Yamagata lineage). A sample that contained no virus was also 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 and gene targets used for the EQAP specimens 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 13 was dispatched between April 2014 and June 2014, from the H5 Reference Laboratory and National Influenza Centre in Hong Kong SAR to 176 participating laboratories from 138 countries in 6 WHO regions as previously described,²⁻⁷ at ambient temperature by courier service. Participating laboratories were requested to report results within 4 weeks after the date of sample reception. Among 175 participating laboratories which received the panel, 128/175 (73.1%) laboratories received samples within 1 week of dispatch and 156/175 (89.1%) laboratories reported results before the closing date. The number of laboratories reporting Panel 13 results in each WHO region is shown in *Figure 1*.

Methods of detection

Various PCR protocols and testing strategies were used by participating laboratories for the detection of influenza type A and B viruses and subtyping of A(H1)pdm09, A(H3), A(H5) and A(H7) viruses as described for previous panels.²⁻⁷ More than half of the participants used the protocols of the US Centers for Disease Control

En 2014, 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, Département de la Santé de Hong Kong (Région administrative spéciale (RAS) de la Chine), avec l'appui des bureaux régionaux de l'Organisation.

Le programme expédie actuellement une fois par an des échantillons pour les tests. Le présent rapport récapitule les résultats de la série 13, qui a été distribuée aux laboratoires participants entre avril et juin 2014. Un test génotypique de sensibilité à l'inhibiteur de la neuraminidase pour les virus grippaux A(H1N1) a aussi été inclus sur une base facultative.

Préparation de la série

Après inactivation par le triton X-100 et dessiccation sous vide, les virus grippaux ont été envoyés aux laboratoires participants. Ils ont été cultivés sur des cellules rénales canines Madin-Darby (MDCK), inactivés par le triton X-100, puis préparés comme cela a été décrit précédemment.²⁻⁷

Composition de la série

La série 13 comportait 10 échantillons codés, avec différentes concentrations de virus grippaux, dont des virus A(H5N1) des clades génétiques 2.2 et 2.3.2.1, A(H3N2), A(H1N1)pdm09 portant la substitution NA-H275Y, et un mélange de NA-275H/Y, A(H7N9) et un virus grippal B (lignée Yamagata). Un échantillon ne contenant aucun virus a également été inclus. Le *Tableau 1* présente en détail la composition de la série. Les participants ont reçu l'instruction de reconstituer chaque échantillon avec de l'eau ayant la qualité requise pour la PCR avant de procéder à l'analyse. Un questionnaire portant sur les méthodes de détection et les cibles géniques utilisées pour les échantillons 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 des échantillons. Le Laboratoire de référence H5 et Centre national de la grippe de la RAS de Hong Kong a envoyé entre avril et juin 2014 les échantillons de la série 13, à température ambiante et par un service d'acheminement rapide, aux 176 laboratoires participants situés dans 138 pays appartenant aux 6 Régions de l'OMS, comme nous l'avons décrit précédemment.²⁻⁷ Il a été demandé aux laboratoires participants de transmettre leurs résultats dans un délai maximum de 4 semaines à compter de la date de réception des échantillons. Sur les 175 laboratoires participants ayant reçu la série, 128 (73,1%) ont reçu les échantillons moins d'une semaine après l'expédition et 156 (89,1%) ont transmis leurs résultats avant la date de clôture. La *Figure 1* donne le nombre des laboratoires ayant transmis leurs résultats pour la série 13 dans chaque Région de l'OMS.

Méthodes de détection

Comme nous l'avons décrit pour les séries précédentes,²⁻⁷ les laboratoires participants ont appliqué divers protocoles de PCR et stratégies de détection pour rechercher les virus grippaux des types A et B et déterminer le sous-typage des virus A(H1)pdm09, A(H3), A(H5) et A(H7). Plus de la moitié des participants ont utilisé les protocoles des *Centers for Disease Control*

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 13 (2014)**

Tableau 1 **Composition de la série et résultats du programme d'évaluation externe de la qualité (EQAP) de l'OMS pour la détection des virus grippaux A et B dans les centres nationaux de la grippe et les autres laboratoires, série 13 (2014)**

Influenza viruses – Virus grippaux	Virus/Clade ^a	Sample number – Numéro de l'échantillon	Copies/ μ l ^b	No. (%) of laboratories correctly identifying sample (<i>n</i> =156) – Nombre (%) de laboratoires identifiant correctement l'échantillon (<i>n</i> =156)
A(H5N1)	2.2	V01-2014 c	2.83 x 10 ¹	116 (74.4)
A(H5N1)	2.2	V07-2014	6.90 x 10 ¹	140 (89.7)
A(H5N1)	2.3.2.1	V09-2014	5.61 x 10 ⁰	138 (88.5)
A(H5N1)	2.3.2.1	V10-2014	3.79 x 10 ¹	147 (94.2)
A(H1N1)pdm09	A/California/7/2009-like virus ^c – Virus analogue à A/California/7/2009 ^c	V02-2014	1.18 x 10 ³	155 (99.4)
A(H1N1)pdm09	A/California/7/2009-like virus ^d – Virus analogue à A/California/7/2009 ^d	V04-2014	2.58 x 10 ²	146 (93.6)
A(H3N2)	A/Switzerland/9715293/2013-like virus – Virus analogue à A/Switzerland/9715293/2013	V08-2014	1.50 x 10 ¹	146 (93.6)
A(H7N9)	A/Hong Kong/5942/2013	V06-2014	8.42 x 10 ¹	135 (86.5)
Influenza B – Grippe B	B/Phuket/3073/2013-like (Yamagata lineage) virus – Virus analogue à B/Phuket/3073/2013 (lignée Yamagata)	V03-2014	4.58 x 10 ¹	152 (97.4)
Negative – Négatif	NA – SO	V05-2014	NA – SO	150 (96.2)

^a The nomenclature of influenza 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 grippaux A(H5N1) est basée sur le gène HA. Pour en savoir plus, consulter 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 du virus inactivé à 25°C.

^c Mixture of virus of wild type and with nucleotide change (C823T) in the NA gene as H275Y amino acid substitution associated with reduced neuraminidase inhibition by oseltamivir. – Mélange de virus de type sauvage et avec modification nucléotidique (C823T) sur le gène NA correspondant à la substitution de l'acide aminé H275Y associée à une réduction de l'inhibition de la neuraminidase par l'oseltamivir.

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

NA: Not applicable. – SO: Sans objet.

and Prevention. Use of different PCR protocols did not yield apparent difference in performance. Details on target genes, detection methods and source of primers/probes and enzymes used were included in the summary report of performance that was distributed to all participants.

Performance of laboratories

Only results returned within the designated closing date from 156 laboratories were included in the analysis. Based on the same assessment criteria for panels 1–12,²⁻⁷ 94/156 (60.3%) participating laboratories returned correct results for all 10 samples and 107 (68.6%) correctly identified all 4 influenza A(H5) samples.

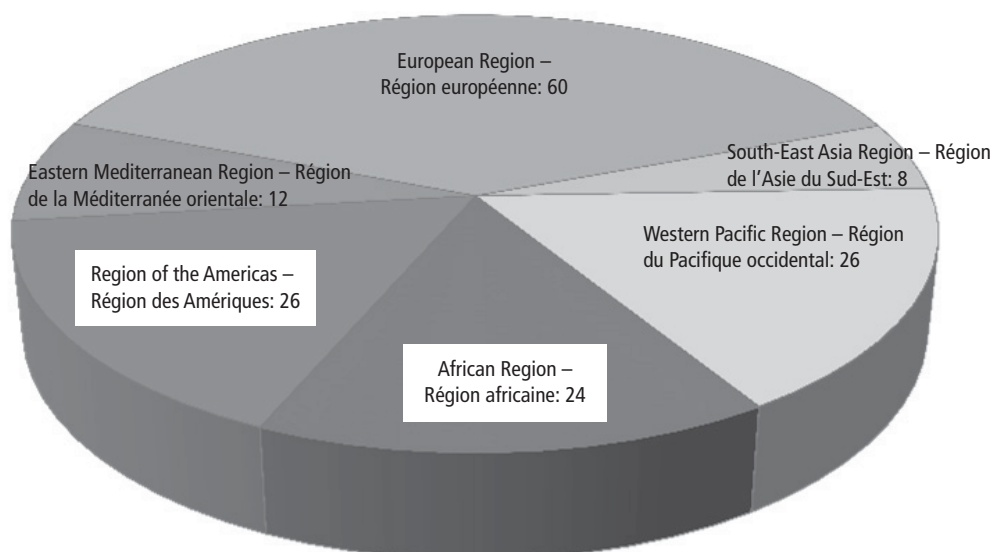
and Prevention (CDC) des États-Unis. L'utilisation de différents protocoles de PCR ne s'est pas traduite par des variations apparentes des résultats. Des détails sur les gènes ciblés, les méthodes de détection et l'origine des amorces/sondes et enzymes utilisés ont été inclus dans le rapport récapitulatif de résultats distribué à tous les participants.

Résultats des laboratoires

Seuls les résultats rendus par 156 laboratoires avant la date de clôture prévue ont été inclus dans l'analyse. Selon les mêmes critères d'évaluation que pour les séries 1 à 12,²⁻⁷ 94/156 laboratoires participants (60,3%) ont transmis des résultats corrects pour l'ensemble des 10 échantillons et 107 (68,6%) ont correctement identifié les 4 échantillons de virus grippaux A(H5).

Figure 1 **Number of laboratories reporting results in the WHO external quality assessment programme for detection of influenza A and B viruses from different WHO regions, panel 13 (2014)**

Figure 1 **Nombre de laboratoires transmettant leurs résultats au programme d'évaluation externe de la qualité (EQAP) de l'OMS pour la détection des virus grippaux A et B dans les différentes Régions de l'OMS, série 13 (2014)**



Two different influenza A(H5N1) viruses were included. The first was a human influenza A(H5) virus of clade 2.2 (represented as V01-2014 and V07-2014 in different concentrations). The rates of correct detection were 116/156 (74.4%) and 140/156 (89.7%) respectively. The second was an avian influenza A(H5) virus of clade 2.3.2.1 (V09-2014 represented as a 10-fold diluted sample of V10-2014). The rates of correct detection were 138/156 (88.5%) and 147/156 (94.2%) respectively.

For the influenza A(H1)pdm09 samples, the rates of correct detection for V02-2014 and V04-2014 were 155/156 (99.4%) and 146/156 (93.6%) respectively. For the influenza A(H3N2) sample (V08-2014) and influenza B Yamagata lineage sample (V03-2014), respectively 146/156 (93.6%) and 152/156 (97.4%) laboratories reported correct results.

A less commonly recognized influenza A(H7N9) virus (V06-2014) was included with 105/156 (67.3%) and 30/156 (19.2%) participants correctly reporting it as influenza A(H7) and influenza A untypeable respectively. The overall rate of correct reporting was 135/156 (86.5%). Six participating laboratories reported positive results for the negative sample (V05-2014). The false-positive rate was 3.8% (Table 1).

The human influenza A(H5) sample at low concentration (V01-2014 with 2.83×10^1 copies/ μ l) was a challenging sample not included for scoring in panel 13. The performance of the laboratories returning all correct results among the 9 scored samples in panel 13 was 71.2% (111/156), while 82.7% (129/156) laboratories reported all correct results for the 3 scored influenza A(H5) samples. The comparison of laboratories' performance for all panels is shown in Figure 2.

Deux virus grippaux A(H5N1) différents ont été inclus. Le premier était un virus humain A(H5) du clade 2.2 (présenté sous les numéros V01-2014 et V07-2014 à différentes concentrations). Les taux de détection correcte ont été de 116/156 (74,4%) et 140/156 (89,7%) respectivement. Le second était un virus aviaire A(H5) du clade 2.3.2.1 (V09-2014 avec aussi un échantillon dilué 10 fois, V10-2014). Les taux de détection correcte ont été de 138/156 (88,5%) et 147/156 (94,2%) respectivement.

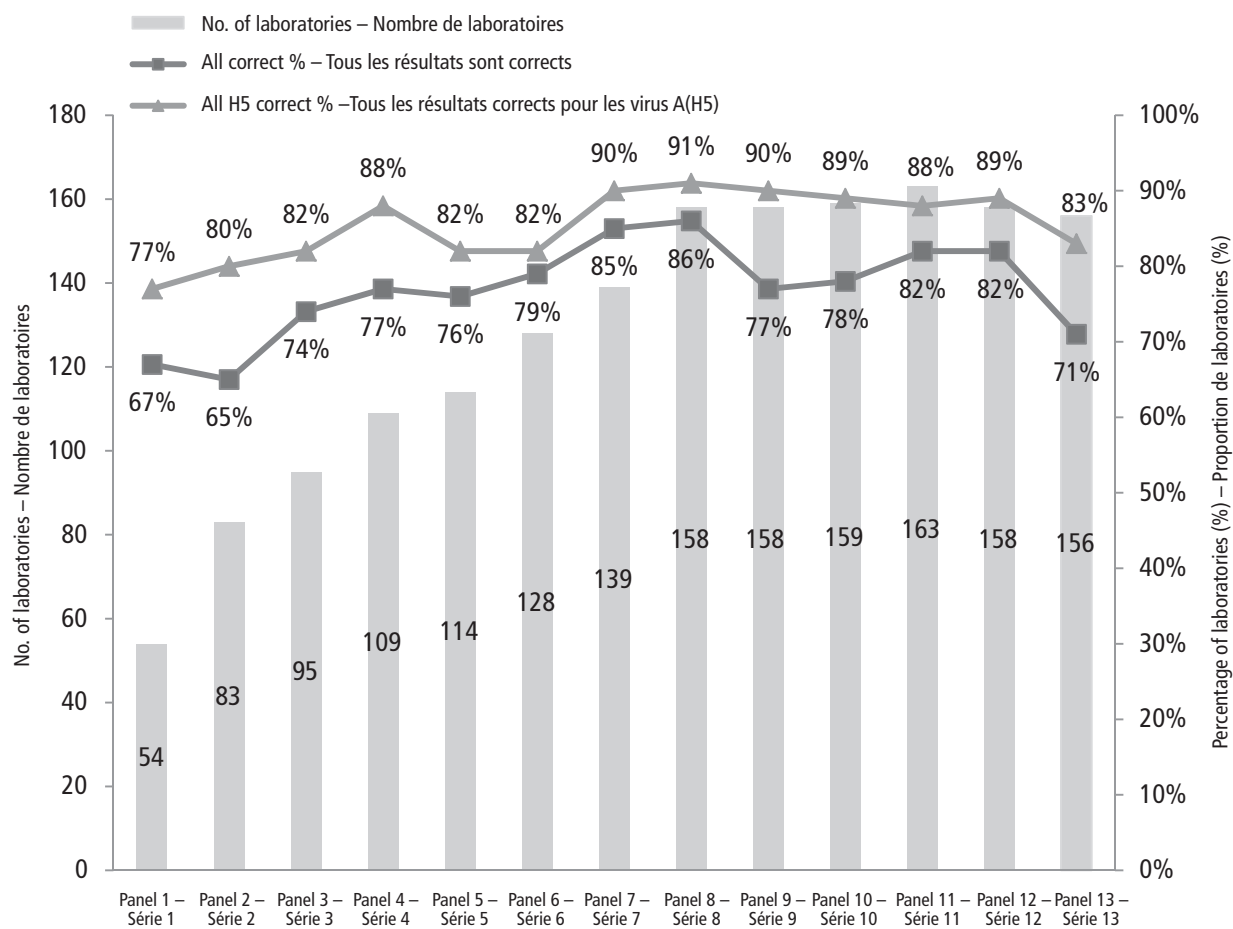
Pour les échantillons de virus grippal A(H1)pdm09, les taux de détection correcte pour V02-2014 et V04-2014 ont été de 155/156 (99,4%) et 146/156 (93,6%) respectivement. Pour l'échantillon de virus grippal A(H3N2) (V08-2014) et de virus grippal B de la lignée Yamagata (V03-2014), 146/156 laboratoires (93,6%) et 152/156 laboratoires (97,4%) respectivement ont rendu des résultats corrects.

Un virus grippal A(H7N9) moins courant (V06-2014) a été inclus avec 105/156 participants (67,3%) indiquant correctement qu'il s'agissait d'un virus grippal A(H7) et 30/156 (19,2%) que c'était un virus grippal A impossible à typer. Le taux global de réponses correctes s'est établi à 135/156 (86,5%). Six laboratoires participants ont transmis des résultats positifs pour l'échantillon négatif (V05-2014), ce qui donne un taux de faux positifs de 3,8% (Tableau 1).

L'échantillon de virus grippal humain A(H5) à faible concentration (V01-2014 avec $2,83 \times 10^1$ copies/ μ l) était un échantillon d'épreuve qui n'était pas inclus dans la notation de la série 13. La proportion de laboratoires rendant tous les résultats corrects pour les 9 échantillons notés dans la série 13 a été de 71,2% (111/156), tandis que 82,7% des laboratoires (129/156) ont transmis des résultats corrects pour les 3 échantillons notés de virus A(H5). La Figure 2 indique la comparaison des résultats des laboratoires pour l'ensemble des séries.

Figure 2 Performance of laboratories participating in the WHO external quality assessment programme for detection of influenza A and B viruses, panels 1–13, 2007–2014

Figure 2 Performance des laboratoires participants au programme d'évaluation externe de la qualité (EQAP) de l'OMS pour la détection des virus grippaux A et B, séries 1-13, 2007-2014



Incorrect results were reported by 62/156 (39.7%) of the participating laboratories; 31/156 (19.9%) returned 1 incorrect result and 31/156 (19.9%) returned more than 1 incorrect result (Table 2). The details are presented in Table 3.

Des résultats incorrects ont été transmis par 62/156 laboratoires participants (39,7%); 31/156 (19,9%) ont rendu un résultat incorrect et 31/156 (19,9%) plus d'un résultat incorrect (Tableau 2). Les détails sont donnés au Tableau 3.

Genotypic neuraminidase inhibitor (NAI) susceptibility testing

Two influenza A(H1)pdm09 samples V02-2014 and V04-2012 associated with reduced neuraminidase inhibition by oseltamivir were included for testing on an optional basis. The number of participants reporting results for either specimen was 38/156 (24.4%). Among these 38 participants, various assays were used and the common methodologies included allelic discrimination by real-time RT-PCR (21, 55.3%), Sanger sequencing (16, 42.1%), pyrosequencing (6, 15.8%) and melting curve analysis (1, 2.6%). Six participants reported using >1 method in which Sanger sequencing was included for result confirmation.

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

Deux échantillons de virus grippal A(H1)pdm09 V02-2014 et V04-2012 associés à une baisse de l'inhibition de la neuraminidase par l'oseltamivir ont été inclus pour être testés sur une base facultative. Le nombre des participants transmettant des résultats pour l'un ou l'autre des échantillons a été de 38/156 (24,4%). Ces 38 participants ont eu recours à diverses méthodes d'essai, couramment la discrimination allélique par RT-PCR (21, 55,3%), le séquençage Sanger (16, 42,1%), le pyroséquençage (6, 15,8%) et l'analyse de la courbe de fusion (1, 2,6%). Six participants ont indiqué qu'ils utilisaient >1 méthode, le séquençage Sanger étant alors inclus pour la confirmation du résultat.

Among the 38 reported results on V02-2014, 21 (55.3%) participants reported a mixture of virus of wild-type and with nucleotide change (C823T) in the NA gene as

Sur les 38 résultats transmis pour V02-2014, 21 participants (55,3%) ont indiqué un mélange de virus de type sauvage et de virus avec modification nucléotidique (C823T) sur le gène NA

Table 2 **Performance of participating laboratories, based on sample and irrespective of score, in external quality assessment programme, panel 13 (2014)**

Tableau 2 **Résultats des laboratoires participant au programme d'évaluation externe de la qualité, sur la base des échantillons sans tenir compte du score, série 13 (2014)**

Performance – Résultats	No. (%) of laboratories (n=156) – Nombre (%) de laboratoires (n=156)
10 samples correct – 10 échantillons corrects	94 (60.3)
9 samples correct – 9 échantillons corrects	31 (19.9)
6–8 samples correct – 6-8 échantillons corrects	21 (13.5)
<6 samples correct – <6 échantillons corrects	10 (6.4)

Table 3 **Details of incorrect results reported by participating laboratories in external quality assessment programme, panel 13 (2014)**

Tableau 3 **Détails des résultats incorrects rendus par les laboratoires participant au programme d'évaluation externe de la qualité, série 13 (2014)**

Samples – Échantillons	Number of participants reporting – Nombre de participants ayant répondu									
	Influenza A(H5) – Virus grippal A(H5)	Other influenza A subtype – Autre sous-type grippal A			Influenza A unsubtypeable – Virus grippal A impossible à typer			Influenza B – Virus grippal B	Negative – Négatif	
V01-2014		6			33			0	1	
V07-2014		3			12			0	1	
V09-2014		3			12			1	2	
V10-2014		0			7			1	1	
	Non-influenza A(H5) – Virus grippaux non A(H5)	A(H1) pdm09	A(H3)	A(H3)v	A(H5)	A(H7)	A(H9)	Flu A unsubtypeable ^a – Grippe A impossible à typer ^a	Flu B – Grippe B	Negative – Négatif
V02-2014/ A(H1)pdm09		NA – SO	0	0	0	0	0	1	0	0
V03-2014/ B Yamagata		0	0	0	1	0	0	0	1 Victoria lineage – Lignée Victoria	2
V04-2014/ A(H1)pdm09		NA	0	0	1	0	0	6	0	3
V05-2014/ Negative		1	0	0	0	0	0	2	3	NA – SO
V06-2014/ A(H7)		3	2	0	0	NA – SO	1	9	1	5
V08-2014/ A(H3)		1	NA – SO	2 ^b	1	0	0	5	1	0

^a Only include laboratories that have indicated performance of the specific typing assay. – N'inclut que les laboratoires ayant indiqué les résultats de l'essai spécifique de typage.

^b Transcriptional error: A(H3)v test not performed by these participants. – Erreur de transcription: test A(H3)v pas effectué par ces participants.

NA: not applicable. – SO: sans objet.

H275Y (H274Y in N2 NA numbering) amino acid substitution, while 13 (34.2%) reported NA H275Y amino acid substitution, associated with reduced neuraminidase inhibition by oseltamivir. The remaining 4 (10.5%) participants reported normal neuraminidase inhibition, with 3 participants reporting wild type NA 275H.

For V04-2014, 32 participants reported results, of which 27 (84.4%) correctly reported NA H275Y amino acid substitution and 1 (3.1%) reported a mixture of 275H/Y, associated with reduced neuraminidase inhibition. The remaining 4 (12.5%) participants reported normal neuraminidase inhibition, with 2 participants reporting

correspondant à la substitution de l'acide aminé H275Y (H274Y dans la numérotation N2 NA), tandis que 13 (34,2%) ont signalé la substitution de l'acide aminé NA-H275Y, s'associant à une baisse de l'inhibition de la neuraminidase par l'oseltamivir. Les 4 participants (10,5%) restants ont indiqué une inhibition normale de la neuraminidase, 3 d'entre eux signalant NA-275H de type sauvage.

Pour l'échantillon V04-2014, 32 participants ont transmis des résultats, parmi lesquels 27 (84,4%) ont correctement signalé la substitution de l'acide aminé NA H275Y et 1 (3,1%) un mélange de 275H/Y, s'associant à une baisse de l'inhibition de la neuraminidase. Les 4 participants (12,5%) restants ont indiqué une inhibition normale de la neuraminidase, 2 d'entre eux signalant

wild type NA 275H. Six participants who returned results for V02-2014 did not report any susceptibility result for V04-2014.

Discussion

The number of laboratories participating in the EQAP has remained fairly stable since Panel 8 in 2010. Among these panels, where scored, the average correct rate for all samples and influenza A(H5) detection were 79% and 88% respectively, compared to 71% and 83% in Panel 13.

The comparatively lower correct rates in this panel are associated with the varied subtyping performance for influenza A(H5N1) genetic clade 2.2 viruses (V01-2014 and V07-2014), the overall correct rate of which (256/312 = 82.1%) was lower than that for genetic clade 2.3.2.1 viruses (V09-2014 and V10-2014, 285/312 = 91.3%) ($p < 0.05$). When comparing the Ct values between matrix gene and haemagglutinin gene of genetic clade 2.2 viruses, apparent differences (>10 cycles) were noted from some participants, with a number of laboratories reporting unsubtypeable influenza A virus results for these samples (Table 3). The challenging sample at a lower concentration (V01-2014 with 2.83×10^1 copies/ μ l) was excluded from the analysis. With dynamic evolution of influenza viruses and circulation of genetic clades in different localities, it is good practice to have regular evaluation and optimization of testing conditions/methods for continued sensitivity of the assays.

For the less commonly circulating influenza virus, an influenza A(H7N9) virus sample V06-2014 was included for the first time. The number of participants performing influenza A(H7) subtyping test increased significantly to 73.1% (114/156) in Panel 13 from 17.7% (28/158) in Panel 12. The increase was likely to have been contributed by the timely availability of influenza A(H7) subtyping methods from WHO. Among these 114 participants, 105 reported correct influenza A(H7) subtyping results while 9 reported influenza A untypeable. The overall correct rate 86.5% (135/156) was comparatively lower than for the seasonal viruses ($>93.5\%$) but better than for influenza A(H9) (81.6% correct rate) when it was first included in Panel 11. For V06-2014, 21 participants also provided A(N9) subtyping results for confirmation. In view of the continuous emergence of new influenza viruses, regular evaluation of the testing method and submission of unsubtypeable samples/ isolates to WHO CCs for further characterization are strongly recommended.

The false positive rate was 3.8% (6/156) in this panel suggesting possible contamination or sampling errors during testing. All of the 6 laboratories were among the 10 laboratories reporting <5 correct results in this panel. Participants should remain vigilant on quality assurance of reagent and testing environment.

Similar to Panel 12, around one-quarter of participants reported results in the genotypic NAI susceptibility testing. In Panel 13, an influenza A(H1)pdm09 sample (V02-2014) with a mixture of wild type virus and another with NA H275Y (in 45%/55% ratio) was

le NA-275H de type sauvage. Six participants ayant transmis des résultats pour l'échantillon V02-2014 n'ont pas rendu de résultats de sensibilité pour l'échantillon V04-2014.

Discussion

Le nombre de laboratoires participant à l'EQAP est resté relativement stable depuis la série 8 en 2010. Sur l'ensemble des séries notées, le taux moyen de réponses correctes à tous les échantillons et à la détection des virus grippaux A(H5) a été de 79% et 88% respectivement, contre 71% et 83% pour la série 13.

Les taux comparativement plus bas de réponses correctes pour cette série s'associent à des résultats variés du sous-typage pour les virus grippaux A(H5N1) du clade génétique 2.2 (V01-2014 et V07-2014), pour lequel le taux de réponses correctes (256/312 = 82,1%) a été inférieur à celui pour les virus du clade génétique 2.3.2.1 (V09-2014 et V10-2014, 285/312 = 91,3%) ($p < 0,05$). En comparant les valeurs Ct entre le gène de la matrice et le gène de l'hémagglutinine des virus du clade génétique 2.2, des différences apparentes (>10 cycles) ont été observées par certains participants, avec un certain nombre de laboratoires indiquant comme résultats des virus grippaux A impossibles à typer pour ces échantillons (Tableau 3). L'échantillon d'épreuve à plus faible concentration (V01-2014 avec $2,83 \times 10^1$ copies/ μ l) a été exclu de l'analyse. Avec l'évolution dynamique des virus grippaux et la circulation des clades génétiques dans diverses localités, il est souhaitable de procéder régulièrement à l'évaluation et à l'optimisation des conditions/méthodes de test pour maintenir la sensibilité des essais.

Pour les virus grippaux dont la circulation est moins courante, un virus grippal A(H7N9), l'échantillon V06-2014, a été inclus pour la première fois. Le nombre de participants effectuant le test de sous-typage des virus A(H7) a augmenté sensiblement, passant à 73,1% (114/156) pour la série 13, contre 17,7% (28/158) pour la série 12. Il est probable que la mise à disposition en temps utile par l'OMS de méthodes de sous-typage des virus grippaux A(H7) ait contribué à cette hausse. Sur ces 114 participants, 105 ont transmis des résultats corrects du sous-typage du virus grippal A(H7), tandis que 9 ont indiqué un virus A impossible à typer. À 86,5% (135/156), le taux global de réponses correctes a été comparativement inférieur à celui pour les virus saisonniers ($>93,5\%$) mais meilleur que pour le virus grippal A(H9) (81,6% de réponses correctes) lorsqu'il a été inclus pour la première fois dans la série 11. Pour l'échantillon V06-2014, 21 participants ont également fourni le résultat de sous-typage A(N9) pour la confirmation. Compte tenu de l'émergence continue de nouveaux virus grippaux, l'évaluation régulière des méthodes de test et la soumission des échantillons/isolements impossibles à typer aux centres collaborateurs de l'OMS pour caractérisation ultérieure sont fortement recommandées.

Le taux de faux positifs a été de 3,8% (6/156) dans cette série, ce qui semble indiquer d'éventuelles contaminations ou des erreurs d'échantillonnage au cours des tests. Ces 6 laboratoires font tous partie des 10 établissements ayant transmis <5 résultats corrects pour cette série. Les participants doivent donc rester vigilants pour ce qui est de l'assurance de la qualité des réactifs et de l'environnement des essais.

Comme pour la série 12, environ un quart des participants ont transmis des résultats pour le test génotypique de sensibilité à l'INA. Dans la série 13, un échantillon de virus grippal A(H1) pdm09 (V02-2014) comportant un mélange de virus de type sauvage avec un autre comportant la substitution NA-H275Y

included. Correct results were reported by 21 participants of which 6 also reported the percentage of 275Y (range: 50%–75%), with 4 using pyrosequencing. For the 13 participants reporting NA 275Y with reduced inhibition to neuraminidase and the 4 participants reporting NA 275H with normal inhibition to neuraminidase, either real-time RT-PCR or Sanger sequencing were used, reflecting different abilities in detecting mixtures of 275H/275Y.

An influenza A(H1N1)pdm09 virus (V04-2014) with NA H275Y amino acid substitution was also included; there was a high correct rate 28/32 (87.5%) comparable to a similar sample in Panel 12. Six participants reporting results for V02-2014 did not provide NAI susceptibility results on this sample, possibly related to lower sensitivity of the assays on this inactivated sample, which contains virus in lower concentration. For the 2 participants using real-time RT-PCR reporting normal neuraminidase inhibition for both samples, optimization of testing conditions and/or primer/probe sequence is recommended. In general, confirmatory testing could be useful as all 6 participants using more than 1 genotypic method reported correct results. In view of the growing importance of antiviral susceptibility surveillance, WHO EQAP will most likely continue the inclusion of susceptibility testing on an optional basis. ■

(selon un rapport de 45%/55%) a été inclus. Des résultats corrects ont été transmis par 21 participants, dont 6 ont également indiqué le pourcentage de 275Y (fourchette: 50%-75%), 4 ayant recours au pyroséquençage. Les 13 participants indiquant NA-275Y avec une baisse de l'inhibition de la neuraminidase et les 4 indiquant NA-275H avec une inhibition normale de la neuraminidase, ont utilisé soit la RT-PCR en temps réel, soit le séquençage Sanger, se traduisant par des capacités différentes pour détection des mélanges 275H/275Y.

Un virus grippal A(H1N1)pdm09 (V04-2014) avec une substitution de l'acide aminé NA-H275Y a également été inclus; le taux de réponses correctes a été élevé, à 28/32 (87,5%), et comparable à un échantillon similaire de la série 12. Six participants ayant transmis des résultats pour V02-2014 n'ont pas fourni de résultats pour la sensibilité à l'INA de cet échantillon, peut-être en lien avec une plus faible sensibilité des essais sur cet échantillon inactivé contenant du virus à une concentration plus basse. Aux 2 participants qui utilisent la RT-PCR en temps réel et ont indiqué une inhibition normale de la neuraminidase pour les 2 échantillons, on préconisera d'optimiser les conditions de l'essai et/ou de la séquence amorce/sonde. En général, les tests de confirmation pourraient être utiles du fait que l'ensemble des 6 participants utilisant plus d'une méthode de génotypage ont transmis des résultats corrects. Compte tenu de l'importance croissante de la surveillance de la sensibilité aux antiviraux, il est très probable que le programme EQAP de l'OMS continue d'inclure un test de sensibilité sur une base facultative. ■

Renewal of paid subscriptions

For 89 years, the *Weekly Epidemiological Record* has served as an essential instrument for collecting and disseminating epidemiological data useful in disease surveillance on a global level. Priority is given to diseases or risk factors known to threaten international public health.

To ensure that you continue to receive the *Weekly Epidemiological Record* without interruption, please remember to renew your subscription for 2013, or place a new one. This can be done through your sales agent. For countries without appointed sales agents, please write to:

World Health Organization, WHO Press, 1211 Geneva 27, Switzerland. Fax: (+41 22) 791 48 57; e-mail: bookorders@who.int. For existing subscribers, please include your subscriber identification number from the mailing label.

For online subscriptions, please use <http://apps.who.int/bookorders/anglais/subscription1.jsp?sesslan=1>

Please find below the annual subscription rates:

Standard rate

Sw.fr. 346.–/US\$ 415.20 Economy mail

Sw.fr. 356.–/US\$ 427.20 Priority mail

Developing country price

Sw.fr. 196.–/US\$ 235.20 Economy mail

Sw.fr. 206.–/US\$ 247.20 Priority mail

Renouvellement des abonnements payants

Depuis 89 ans, le *Relevé épidémiologique hebdomadaire* est un instrument essentiel pour la collecte et la diffusion de données épidémiologiques utiles pour la surveillance des maladies sur le plan mondial. La priorité est donnée aux maladies ou facteurs de risque qui menacent la santé publique sur le plan international.

Pour continuer de recevoir sans interruption le *Relevé épidémiologique hebdomadaire* en 2013, merci de ne pas oublier de renouveler votre abonnement ou de souscrire pour la première fois. Cela peut être fait par votre dépositaire. Pour les pays où aucun dépositaire n'a été désigné, veuillez écrire à:

Organisation mondiale de la Santé, Editions OMS, 1211 Genève 27, Suisse. Fax : (+41 22) 791 48 57; courriel: bookorders@who.int. Pour les personnes déjà abonnées, merci de ne pas oublier de préciser le numéro d'abonnement figurant sur l'étiquette d'expédition.

Enfin, pour les abonnements en ligne, merci de vous rendre sur <http://apps.who.int/bookorders/francais/subscription2.jsp?sesslan=2>

Veuillez trouver ci-dessous les prix des abonnements annuels:

Prix standard

Sw.fr. 346.–/US\$ 415.20 Envoi économique

Sw.fr. 356.–/US\$ 427.20 Envoi prioritaire

Prix pour les pays en développement

Sw.fr. 196.–/US\$ 235.20 Envoi économique

Sw.fr. 206.–/US\$ 247.20 Envoi prioritaire