



## Contents

- 261 Informal consultation  
of the Global Polio Laboratory  
Network – June 2008

## Sommaire

- 261 Consultation informelle du  
Réseau mondial de laboratoires  
pour la poliomyélite – juin 2008

### Informal consultation of the Global Polio Laboratory Network – June 2008

The fourteenth informal consultation of the Global Polio Laboratory Network (GPLN) was held 26–27 June 2008 at WHO's headquarters in Geneva, Switzerland. Participants attended from 26 of 145 network laboratories and all 6 WHO regions. The consultation reviewed global trends in detecting wild and vaccine-derived polioviruses, workload, performance and the GPLN's quality assurance programme. The informal consultation was preceded by a 2-day meeting of a small working group convened by WHO to focus on new approaches for developing more rapid laboratory detection of polioviruses. The working group comprised 7 representatives from 6 global specialized polio laboratories, 2 laboratory coordinators from WHO headquarters, 2 regional laboratory coordinators, 1 representative from a polio-endemic region (the Eastern Mediterranean Region) and 1 from a polio-free region (the European Region).

### Summary

#### Detection of wild polioviruses

During 2007, the GPLN analysed 156 318 faecal samples from cases with acute flaccid paralysis (AFP) and 10 555 samples from non-AFP sources. Laboratory results confirmed the circulation of wild poliovirus serotype-1 and serotype-3 in the WHO regions of Africa, the Eastern Mediterranean and South-East Asia, and the continued absence of circulation of serotype-3 wild poliovirus anywhere in the world. The wild polioviruses detected belonged to 4 genotypes: South Asia wild poliovirus types 1 and 3 (SOAS WPV1 and SOAS WPV3) and West Africa B types 1 and 3 (WEAF-B WPV1 and WEAF-B WPV3). The 2 SOAS genotypes are endemic to Afghanistan, India and Pakistan; the 2 WEAF-B genotypes are endemic to Nigeria. The 4 genotypes were transmitted in their endemic locations in both 2007 and 2008. Wild polioviruses were also isolated from

### Consultation informelle du Réseau mondial de laboratoires pour la poliomyélite – juin 2008

Le Réseau mondial de laboratoires pour la poliomyélite a tenu sa quatorzième consultation informelle au Siège de l'OMS à Genève (Suisse), les 26 et 27 juin 2008. Ont participé à la consultation des représentants de 26 des 145 laboratoires du Réseau provenant de l'ensemble des 6 Régions de l'OMS. Ils ont examiné les tendances observées dans le monde s'agissant de la détection des poliovirus sauvages et dérivés de souches vaccinales, la charge de travail, les résultats obtenus et le programme d'assurance de la qualité du Réseau. La consultation informelle a été précédée d'une réunion de 2 jours d'un petit groupe de travail, convoquée par l'OMS pour examiner plus particulièrement les nouvelles stratégies de développement d'outils permettant de détecter plus rapidement les poliovirus au laboratoire. Ce groupe de travail était constitué de 7 représentants des 6 laboratoires de la poliomyélite spécialisés mondiaux, de 2 coordonnateurs des laboratoires du Siège de l'OMS, de 2 coordonnateurs régionaux des laboratoires, d'1 représentant d'une Région d'endémie de la poliomyélite (la Région de la Méditerranée orientale) et d'1 représentant d'une Région exempte de poliomyélite (Région européenne).

### Résumé

#### Détection des poliovirus sauvages

En 2007, le Réseau a analysé 156 318 échantillons coprologiques provenant de cas de paralysie flasque aiguë (PFA) et 10 555 échantillons ayant une origine autre que la PFA. Les résultats de laboratoire ont confirmé la circulation des sérotypes 1 et 3 du poliovirus sauvage des Régions africaine, de la Méditerranée orientale et de l'Asie du Sud-Est et l'absence persistante de circulation du poliovirus sauvage de sérotype 3 partout dans le monde. Les poliovirus sauvages détectés appartenaient à 4 génotypes: poliovirus sauvage South Asia de types 1 et 3 (SOAS WPV1 et SOAS WPV3) et West Africa B de types 1 et 3 (WEAF-B WPV1 et WEAF-B WPV3). Les 2 génotypes SOAS sont endémiques en Afghanistan, en Inde et au Pakistan; les 2 génotypes WEAF-B sont endémiques au Nigéria. Ces 4 génotypes ont été transmis dans leurs zones d'endémie en 2007 et en 2008. Des poliovirus sauvages ont également été isolés dans des échantillons coprologiques de cas de PFA

WORLD HEALTH  
ORGANIZATION  
Geneva

ORGANISATION MONDIALE  
DE LA SANTÉ  
Genève

Annual subscription / Abonnement annuel

Sw. fr. / Fr. s. 334.–

7.2008

ISSN 0049-8114

Printed in Switzerland

faecal samples of AFP cases in 12 non-endemic countries between January 2007 and June 2008, and in all instances the viruses were genetically linked through VP1 viral nucleotide sequences to genotypes found in India or Nigeria. Type-1 viruses of Indian origin were confirmed in Angola, the Central African Republic, the Democratic Republic of the Congo and Nepal. WEAF-B WPV1 was confirmed in 2008 in 1 case in Benin and represented importation from neighbouring Nigeria. Chad and Niger had multiple new importations of type-1 viruses from Nigeria in 2007 and 2008. Genetic data linked type-1 viruses detected in Chad in 2007 (1 of 2 circulating strains) and in Ethiopia and Sudan in 2008 to outbreaks caused by imported Nigerian viruses that occurred  $\geq 3$  years earlier in these same countries, indicating gaps in AFP surveillance. In July 2007, the reference laboratory in Australia isolated SOAS WPV1 from an adult patient of Pakistani origin who had had onset of limb weakness while visiting Pakistan before entering Australia. There was no evidence of local spread of the virus to household or travel contacts of this case.

Generally, importation of type-3 polioviruses into non-endemic countries occurred less frequently than importation of serotype-1 viruses. However, importation of serotype-3 viruses of Indian origin occurred on several occasions into Nepal in 2007 and 2008 and into Angola in 2008. Chad and Niger had type-3 virus importations from Nigeria: in Niger in 2007 and Chad in both 2007 and 2008.

The GPLN also detected or characterized wild polioviruses from non-AFP sources. Such investigations showed the presence of wild type-1 and type-3 viruses in sewage waters in Mumbai, India, on several occasions in 2007 and 2008; these viruses were genetically linked to those circulating in Bihar, India. A single wild poliovirus isolate from sewage waters in Geneva, Switzerland, in August 2007 was linked to virus circulating in Chad.

### Détection de vaccins dérivés poliovirus

The GPLN continues to screen for programmatically important viruses among Sabin-related strains obtained from AFP cases and non-AFP sources. The screening algorithm flags strains for VP1 nucleotide sequencing if they give discordant results when analysed in separate tests for intratypic differentiation (ITD) based on genetic and antigenic characteristics. Strains showing  $>1\%$  VP1 nucleotide sequence divergence from the Sabin parental strains are classified as vaccine-derived polioviruses (VDPV). The combination of sequence results, clinical status and epidemiological investigations allows the categorization of Sabin strains as: circulating VDPV (cVDPV) if obtained from  $\geq 2$  AFP cases in the same community, immunodeficient VDPV (iVDPV) if strains are obtained from immunodeficient people, or ambiguous (aVDPV) if there is no evidence suggesting community circulation or immunodeficiency. In 2007, the GPLN screened 3303 Sabin-related strains and found cVDPVs in Myanmar (type-1) and Nigeria (type-2). In the Russian Federation, iVDPVs were found (1 serotype-1 and 1 serotype-2); iVDPVs were also found in Belarus (serotype-2). Type-1 aVDPVs were isolated from AFP cases in Guangxi, Shandong and Shanxi provinces in China (all independent events) and from a single sewage sample collected in Zurich, Switzerland, in 2008. Serotype-2 aVDPVs were detected in a single AFP case in the Democratic Republic of the Congo and in sewage samples collected in Israel (several isolates) in 2007 and 2008; in 2008 type-2 aVDPVs were detected in Geneva,

dans 12 pays de non endémie entre janvier 2007 et juin 2008, et dans tous ces cas les virus étaient génétiquement liés par les séquences nucléotidiques virales VP1 aux génotypes trouvés en Inde ou au Nigéria. La présence de virus de type 1 d'origine indienne a été confirmée en Angola, en République centrafricaine, en République démocratique du Congo et au Népal. La présence du poliovirus WEAF-B WPV1 a été confirmée en 2008 chez 1 cas au Bénin et constituait une importation du Nigéria voisin. Le Tchad et le Niger ont eu de nombreuses importations de virus de type 1 en provenance du Nigéria en 2007 et en 2008. Les données génétiques ont permis de relier les virus de type 1 mis en évidence au Tchad en 2007 (1 des 2 souches circulantes) et en Ethiopie et au Soudan en 2008 à des flambées provoquées par des virus nigériens importés, qui s'étaient produites  $\geq 3$  ans auparavant dans ces mêmes pays, indiquant qu'il y a des lacunes dans la surveillance de la PFA. En juillet 2007, le laboratoire de référence australien a isolé le virus SOAS WPV1 chez un malade adulte d'origine pakistanaise qui avait présenté un début de faiblesse des membres alors qu'il était en visite au Pakistan avant son arrivée en Australie. Il n'y a eu aucun signe de propagation locale du virus à l'entourage ni aux personnes ayant voyagé avec ce cas.

En général, l'importation de poliovirus de type 3 dans les pays de non endémie s'est produite moins souvent que l'importation de virus de sérotype 1. Cependant, il y a eu plusieurs cas d'importation de virus d'origine indienne appartenant au sérotype 3 au Népal en 2007 et en 2008, et en Angola en 2008. Le Tchad et le Niger ont eu des importations de virus de type 3 en provenance du Nigéria: le Niger en 2007 et le Tchad en 2007 et en 2008.

Le Réseau a également mis en évidence ou caractérisé des poliovirus sauvages ayant une origine autre que la PFA. A plusieurs reprises en 2007 et en 2008, les enquêtes menées ont montré la présence de virus sauvages de type 1 et de type 3 dans les eaux usées de Mumbai (Inde); ces virus étaient génétiquement liés à ceux circulant dans le Bihar (Inde). Un isolement unique de poliovirus effectué dans des eaux usées à Genève (Suisse) en août 2007 était lié à un virus circulant au Tchad.

### Détection des poliovirus dérivés de souches vaccinales

Le Réseau continue de dépister les virus importants sur le plan programmatique parmi les souches apparentées à la souche Sabin obtenus auprès de cas de PFA ou d'autres sources. L'algorithme de dépistage signale les souches qui doivent être soumises à un séquençage nucléotidique VP1 si elles donnent des résultats discordants lorsqu'on les analyse au moyen de tests séparés de différenciations intratypiques (DIT) basés sur des caractéristiques génétiques et antigéniques. Les souches qui montrent  $>1\%$  de divergence dans la séquence nucléotidique du VP1 par rapport aux souches Sabin parentales sont classées comme étant des poliovirus dérivés de souches vaccinales (PVDV). L'association des résultats du séquençage, de l'état clinique et des enquêtes épidémiologiques permet de ranger les souches Sabin dans différentes catégories: les PVDV circulants (PVDVc) s'ils sont obtenus chez  $\geq 2$  cas de PFA dans la même communauté, PVDV immunodéficients (PVDVi) si les souches sont obtenues chez des sujets immunodéficients, ou PVDV ambigu (PVDVa) s'il n'y a rien qui permette de penser qu'ils circulent dans la communauté ou chez des sujets immunodéficients. En 2007, le Réseau a effectué un dépistage sur 3303 souches apparentées à la souche Sabin et a trouvé des PVDVc au Myanmar (type 1) et au Nigéria (type 2). En Fédération de Russie, des PVDVi ont été trouvés (1 de sérotype 1 et 1 de sérotype 2); on a également trouvé des PVDVi au Bélarus (sérotype 2). Des PVDVa de type 1 ont été isolés dans les provinces de Guangxi, Shandong et Shanxi en Chine (événements tous indépendants) et dans un échantillon unique d'eaux usées collecté à Zurich (Suisse) en 2008. Des PVDVa de sérotype 2 ont été mis en évidence chez un cas unique de PFA en République démocratique du Congo et dans des échantillons d'eaux usées collectés en Israël (plusieurs isolements) en 2007 et

Switzerland (1 isolate). Also in 2008, a single serotype-3 VDPV case has been detected in Malawi; a single serotype-2 VDPV has been retrospectively detected in Somalia in 2005 as the result of an evaluation of a new VDPV screening assay.

### **Efforts to increase the speed of wild poliovirus confirmation**

Since 2006, the GPLN has been working to increase the speed of confirmation of wild poliovirus in the remaining polio-endemic regions.<sup>1</sup> Actions taken have included adopting new test algorithms with shortened reporting times for virus isolation (the indicator for classifying results as timely has decreased from 28 to 14 days) and ITD of viruses as wild or vaccine-like (indicator has decreased from 14 days to 7 days), increasing the number of laboratories that have the capacity to perform ITD using polymerase chain reaction (PCR) and enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), and revising data-management practices. The 44 laboratories in polio-endemic regions have all adopted the new approach for virus isolation. The GPLN had planned to have 27 of these 44 laboratories operating with functional ITD capacity by December 2007; in 2006, 12 already had appropriate capacity, 6 had to shift from probe-hybridization assay to PCR, and ITD capacity was to be established for the first time in 9 laboratories. By December 2007, 21 laboratories had fully functional ITD and were providing results for programme use; 4 new ITD laboratories had passed the proficiency test for at least 1 ITD method and were testing isolates in parallel with reference laboratories; proficiency testing was pending for 1 new ITD laboratory; and no work had begun at the remaining facility where substantial renovation is required to improve the infrastructure for testing. By March 2008, 68% of the samples from AFP cases in polio-endemic regions were being tested in laboratories with capacity for both virus isolation and ITD.

The majority of laboratories in polio-endemic regions had no difficulty in meeting the new shortened timelines for reporting virus-isolation results, but some laboratories with high workloads and some new ITD laboratories fell short of the 7-day reporting indicator for timely ITD results. By March 2008, the percentage of laboratories providing virus isolation results within 14 days was 87% in the African Region, 92% in the Eastern Mediterranean Region and 63% in the South-East Asia Region. The percentage of laboratories providing ITD results within 7 days was 57% in the African Region, 94% in the Eastern Mediterranean and 42% in South-East Asia. Overall, the median time taken for completing laboratory procedures from the time of the first confirmed case of wild poliovirus associated with any importation event or outbreak declined from 35 days during 2003–2006 to 17 days during January 2007–June 2008.

The South-East Asia Region has been slower than the other 2 polio-endemic regions to achieve an overall reduction in reporting times for wild poliovirus identification. Multiple factors have contributed to slower progress in the South-East Asia Region, including a 300% higher workload than other regions, a low number of laboratories with ITD capacity within India where the workload is highest, and an uneven distribution of workload

2008; en 2008, des PVDVa de type 2 ont été mis en évidence à Genève, Suisse (1 isolement). Toujours en 2008, un cas unique de PVDV de sérotype 3 a été repéré au Malawi; un cas unique de PVDV de sérotype 2 a été mis en évidence rétrospectivement en Somalie en 2005 suite à l'évaluation d'un nouveau test de dépistage des PVDV.

### **Efforts visant à accroître la rapidité de la confirmation de la présence de poliovirus sauvages**

Depuis 2006, le Réseau s'est efforcé d'accroître la rapidité avec laquelle on obtenait confirmation de la présence des poliovirus sauvages dans les régions d'endémie restantes.<sup>1</sup> Parmi les mesures prises, il y a eu l'adoption de nouveaux algorithmes de tests avec des durées de notification raccourcies pour l'isolement des virus (l'indicateur servant à classer les résultats comme obtenus en temps voulu est passé de 28 à 14 jours) et la DIT distinguant les virus sauvages de ceux de type vaccinal (l'indicateur est passé de 14 jours à 7 jours), l'accroissement du nombre de laboratoires à effectuer la différenciation intratypique au moyen de l'amplification génique (PCR) et du titrage avec un immunoadsorbant lié à une enzyme (ELISA), ainsi que la révision des pratiques en matière de gestion des données. Les 44 laboratoires des régions d'endémie de la poliomyélite ont tous adopté la nouvelle stratégie d'isolement des virus. Le Réseau avait prévu que 27 de ces 44 laboratoires fonctionneraient avec la possibilité d'effectuer la DIT en décembre 2007; en 2006, 12 disposaient déjà des moyens voulus, 6 devaient passer de l'hybridation en présence de sondes à la PCR et il fallait mettre en place pour la première fois les moyens nécessaires à la DIT dans 9 laboratoires. En décembre 2007, 21 laboratoires étaient entièrement opérationnels pour la DIT et fournissaient des résultats au programme; 4 nouveaux laboratoires de DIT avaient passé le test d'aptitude pour au moins 1 méthode de différenciation intratypique et testaient des isoléments en parallèle avec les laboratoires de référence; les tests d'aptitude étaient en cours dans 1 nouveau laboratoire de DIT; et aucun travail n'avait démarré dans l'établissement restant, où une rénovation importante était nécessaire pour améliorer l'infrastructure destinée aux tests. En mars 2008, 68% des échantillons des cas de PFA survenus dans les régions d'endémie de la poliomyélite étaient testés dans des laboratoires dotés des moyens voulus pour l'isolement du virus et pour la différenciation intratypique.

La majorité des laboratoires des régions d'endémie de la poliomyélite n'ont eu aucune difficulté à respecter les nouveaux délais de notification des résultats de l'isolement des virus, mais certains ayant des volumes de travail élevés et certains nouveaux laboratoires de DIT n'ont pas réussi à respecter l'indicateur des 7 jours pour la notification des résultats de la DIT. En mars 2008, le pourcentage de laboratoires fournissant les résultats de l'isolement viral dans les 14 jours était de 87% dans la Région africaine, de 92% dans la Région de la Méditerranée orientale et de 63% dans la Région de l'Asie du Sud-Est. Le pourcentage de laboratoires fournissant les résultats de la DIT en 7 jours était de 57% dans la Région africaine, de 94% dans la Région de la Méditerranée orientale et de 42% en Asie du Sud-Est. Dans l'ensemble, la durée médiane nécessaire pour achever les tests de laboratoire à partir du moment où le premier cas de poliovirus sauvage associé à une importation ou à une flambée a été confirmé a diminué, passant de 35 jours entre 2003 et 2006 à 17 jours entre janvier 2007 et juin 2008.

La Région de l'Asie du Sud-Est a été moins rapide que les 2 autres Régions où la poliomyélite est endémique pour parvenir à une réduction générale des délais de notification de l'identification des poliovirus sauvages. Cette évolution plus lente de la Région de l'Asie du Sud-Est est due à de nombreux facteurs, notamment à un volume de travail supérieur de 300% à celui des autres Régions, au faible nombre de laboratoires capables d'effectuer la DIT en Inde, où le volume de travail est le plus élevé au monde,

<sup>1</sup> See No. 33, 2007, pp. 298–302 and No. 44, 2006, pp. 417–424.

<sup>1</sup> Voir N° 33, 2007, pp. 298-302 et N° 44, 2006, pp. 417-424.

among laboratories. For example, the Sanjay Gandhi Postgraduate Institute of Medical Sciences in Lucknow, India, tested approximately 32 000 faecal samples in 2007, accounting for 40% of the workload for India and 36% of the regional workload. Other laboratories with high workloads in other endemic regions include those situated in Islamabad, Pakistan (at the National Institute of Health), and the Ibadan laboratory (at the University of Ibadan) and Maiduguri laboratory (at the University of Maiduguri) in Nigeria. For these laboratories, as with the Sanjay Gandhi Postgraduate Institute of Medical Sciences, efforts continue to improve efficiency by redistributing the workload, increasing staffing levels or providing extra equipment to increase testing throughput.

Among non-endemic regions, only laboratories in the Region of the Americas have implemented the new test algorithms, and 90% of the AFP workload is tested in facilities with the capacity for both virus-isolation and ITD. This contrasts with the situation in the other non-endemic regions of Europe and the Western Pacific, where only 8% and 7%, respectively, of network laboratories have ITD capacity and where the new test algorithms have not been implemented.

### The GPLN's quality assurance programme

The GPLN must continue to maintain a high standard of performance in all regions. WHO continues to coordinate a quality assurance programme that encompasses laboratory accreditation, proficiency testing and ongoing monitoring of the accuracy and timeliness of the reporting of laboratory results. The GPLN's proficiency-test programme showed that 142 of 143 participating laboratories attained passing scores of  $\geq 80\%$  for virus isolation and typing; 37 of 38 attained passing scores of  $\geq 90\%$  for ITD by PCR; 26 of 27 attained similar scores for ITD by ELISA; and all 5 laboratories using probe-hybridization assay attained scores of  $\geq 90\%$ . In 2007, the accreditation programme fully accredited 141 of all 145 laboratories (97.2%); 2/145 (1.4%) were provisionally accredited; and 2/145 (1.4%) were not evaluated. The GPLN's accreditation programme had identified performance concerns in Maiduguri, Nigeria, in 2006 and in Bangladesh in 2007, but both laboratories have now been fully accredited, having satisfactorily addressed the areas of weak performance through on-site retraining of personnel by consultant virologists and addressing certain technical and managerial weaknesses.

The GPLN introduced revised accreditation checklists in January 2008, with the main changes targeted at conducting more detailed evaluations of managerial functions and biosafety, and introducing new indicators for monitoring reporting times by laboratories using test algorithms adopted since June 2006. Participants at the informal consultation expressed concern that no accreditation criteria have been established for evaluating laboratories providing VP1 nucleotide sequence results. Delays in reporting sequence data occasionally hamper efforts to clarify transmission links among cases; these links may provide useful information for targeting immunization interventions to halt transmission.

Another important area of the GPLN's quality assurance programme is biosafety. The GPLN has begun working towards launching a campaign to address biosafety risks in 2009, with the aim of strengthening biosafety practices. Audiovisual and written training materials

et à la répartition inégale de ce volume de travail entre les différents laboratoires. Par exemple, le Sanjay Gandhi Postgraduate Institute of Medical Sciences de Lucknow (Inde) a testé environ 32 000 échantillons coprologiques en 2007, ce qui représente 40% du volume de travail en Inde et 36% du volume régional. Les autres laboratoires ayant des volumes de travail élevés dans d'autres régions d'endémie sont ceux d'Islamabad (Pakistan) (au National Institute of Health), d'Ibadan (à l'Université d'Ibadan) et de Maiduguri (à l'Université de Maiduguri) au Nigéria. Pour ces laboratoires, comme pour le Sanjay Gandhi Postgraduate Institute of Medical Sciences, les efforts se poursuivent afin d'améliorer l'efficacité en redistribuant le travail, en augmentant la dotation en personnel ou en fournissant du matériel supplémentaire pour augmenter le rendement des tests.

Parmi les régions de non endémie, seuls les laboratoires de la Région des Amériques ont mis en œuvre les nouveaux algorithmes de test et 90% du volume de travail lié à la PFA sont testés dans des établissements capables d'effectuer l'isolement du virus et la différenciation intratypique. C'est en opposition avec la situation qui règne dans les autres Régions de non endémie d'Europe et du Pacifique occidental, où seuls 8% et 7%, respectivement, des laboratoires du Réseau disposent des moyens pour effectuer la DIT et où les nouveaux algorithmes de tests n'ont pas encore été mis en œuvre.

### Le programme d'assurance de la qualité du Réseau

Le Réseau doit continuer de maintenir une qualité élevée des résultats dans l'ensemble des régions. L'OMS continue de coordonner un programme d'assurance de la qualité, qui englobe l'accréditation des laboratoires, les tests d'aptitude et la surveillance permanente de l'exactitude et du respect des délais de la notification des résultats de laboratoire. Le programme de tests d'aptitude du Réseau a montré que 142 des 143 laboratoires participants avaient des taux de réussite  $\geq 80\%$  pour l'isolement et le typage des virus; 37 laboratoires sur 38 ont des taux de réussite  $\geq 90\%$  pour la DIT par PCR; 26 sur 27 ont des scores analogues pour la DIT par ELISA; et les 5 laboratoires se servant de l'hybridation en présence de sondes ont des taux de réussite  $\geq 90\%$ . En 2007, le programme d'accréditation a pleinement accrédité 141 des 145 laboratoires (97,2%); 2 laboratoires sur 145 (1,4%) ont été accrédités provisoirement et les 2 autres (1,4%) n'ont pas été évalués. Le programme d'accréditation du Réseau a recensé des problèmes au niveau des résultats à Maiduguri (Nigéria) en 2006 et au Bangladesh en 2007, mais ces 2 laboratoires sont désormais pleinement accrédités, ayant remédié de façon satisfaisante aux lacunes qu'ils avaient grâce au recyclage du personnel effectué sur place par des virologistes consultants et au traitement de certaines faiblesses techniques et gestionnaires.

Le Réseau a introduit des listes de contrôle révisées pour l'accréditation en janvier 2008, dont les principaux changements ont porté sur le fait d'effectuer des évaluations plus détaillées des fonctions gestionnaires et de la sécurité biologique, et d'introduire de nouveaux indicateurs pour surveiller les délais de notification des laboratoires se servant des algorithmes de tests adoptés depuis juin 2006. Les participants à la consultation informelle ont exprimé leur inquiétude concernant le fait qu'aucun critère d'accréditation n'avait été établi pour évaluer les laboratoires fournissant des résultats sur les séquences nucléotidiques VP1. Les retards enregistrés dans la notification des données de ces séquences viennent parfois gêner les efforts visant à préciser les liens entre les cas; ces liens peuvent fournir des renseignements utiles pour cibler les interventions de vaccination visant à mettre fin à la transmission.

Un autre domaine important du programme d'assurance de la qualité du Réseau est la sécurité biologique. Le Réseau a commencé ses travaux en vue du lancement en 2009 d'une campagne visant à faire face au risque lié à la sécurité biologique, avec pour objectif le renforcement de cette dernière. Des matériels de formation

are being developed and should be available for distribution by January 2009.

### Feedback on new diagnostic approaches

The small working group that met before the informal consultation reviewed progress made in implementing new test algorithms in the GPLN, the preliminary data from field evaluations of new real-time PCR assays proposed to be implemented to increase sensitivity of screening for VDPVs and to replace the traditional PCR for ITD, progress made towards developing molecular-based tests for direct detection or screening for the presence of polioviruses in faecal samples, and plans to implement supplementary surveillance for polioviruses through testing of sewage waters in selected settings.

Real-time PCR assays for ITD and VDPV screening are being evaluated under field conditions in 3 network laboratories in Mumbai, India, Islamabad, Pakistan, and Johannesburg, South Africa. Additional assessment is needed, and reagents will be sent to the global specialized laboratories in July 2008 so that they can collaborate in the evaluation. Preliminary data showed that there were no major operational or technical constraints at pilot sites implementing the real-time PCR assays. There was high overall concordance among results found using traditional PCR and real-time PCR for ITD. The real-time PCR assay for VDPV screening target positions within the VP1 region of the genome that revert at high frequency; during evaluation, it flagged several strains for VP1 nucleotide sequencing, which were subsequently categorized as VDPV and would have gone undetected using traditional screening. These strains included several type-2 from Nigeria and the strains mentioned earlier from Malawi in 2008, the Democratic Republic of the Congo in 2007 and Somalia in 2005. Several type-1 VDPVs (tested retrospectively) from a previously reported outbreak would not have been flagged by the real-time PCR VDPV screening assay, and the developers suggested that minor modifications to key reagents may address this deficiency. The modifications to reagents will be made shortly, and the new reagents will be incorporated into the ongoing field evaluations.

The GPLN hopes to benefit from the experiences of several locations using molecular-based methods for direct detection and identification of non-polio enteroviruses in faecal samples. Data on molecular methods for enterovirus detection from Japan were reviewed by the small working group. Similar methods may be applicable to the direct detection of polioviruses and may provide an additional approach to reducing the time required to identify programmatically important viruses.

Environmental surveillance for polioviruses is being contemplated as a supplementary approach to AFP surveillance in Karachi, Pakistan, and in Haiti. In Pakistan, the aim is to identify areas that sustain wild poliovirus during the season of low transmission to target immunization activities to interrupt transmission. In Haiti, the aim is to determine whether Sabin-related strains are circulating in communities. There may be other geographical locations where such supplementary surveillance approaches may be beneficial.

audiovisuels et écrits sont en cours d'élaboration et devraient être disponibles afin d'être distribués d'ici janvier 2009.

### Retour d'information sur les nouvelles stratégies diagnostiques

Le petit groupe de travail qui s'est réuni avant la consultation informelle a examiné les progrès accomplis dans la mise en œuvre des nouveaux algorithmes de tests dans le Réseau, les données préliminaires des évaluations de terrain des nouvelles PCR en temps réel, dont la mise en œuvre a été proposée pour accroître la sensibilité du dépistage des PVDV et remplacer la PCR classique utilisée pour la DIT, les progrès accomplis en vue de la mise au point de tests moléculaires pour la détection directe ou le dépistage de la présence des poliovirus dans les échantillons coprologiques et enfin les plans visant à mettre en œuvre une surveillance supplémentaire des poliovirus au moyen de tests effectués sur les eaux usées dans des situations particulières.

Les épreuves de PCR en temps réel utilisées pour la DIT et le dépistage des PVDV sont en cours d'évaluation sur le terrain dans 3 laboratoires du Réseau situés à Mumbai (Inde), Islamabad (Pakistan) et Johannesburg (Afrique du Sud). Une évaluation supplémentaire est nécessaire et des réactifs seront envoyés aux laboratoires spécialisés mondiaux en juillet 2008, de façon qu'ils puissent collaborer à l'évaluation. Les données préliminaires ont montré qu'il n'y avait pas de difficulté opérationnelle ou technique majeure dans les sites pilotes mettant en œuvre la PCR en temps réel. On a observé une concordance générale des résultats élevée pour la DIT, qu'ils aient été obtenus par la PCR classique ou la PCR en temps réel. La PCR en temps réel utilisée pour le dépistage des PVDV vise des positions dans la région VP1 du génome, qui montrent une fréquence élevée d'inversions; au cours de l'évaluation, elle a signalé plusieurs souches en vue d'un séquençage nucléotidique VP1, qui ont par la suite été rangées dans la catégorie des PVDV et qui n'auraient pas été détectées au moyen du dépistage traditionnel. Ces souches comprenaient plusieurs virus de type 2 du Nigéria et les souches mentionnées précédemment identifiées au Malawi en 2008, dans la République démocratique du Congo en 2007 et en Somalie en 2005. Plusieurs PVDV de type 1 (testés rétrospectivement) provenant d'une flambée notifiée précédemment n'auraient pas été mis en évidence par la PCR en temps réel et les concepteurs ont proposé des modifications mineures à apporter aux principaux réactifs, qui permettraient de remédier à cette insuffisance. Ces modifications seront apportées aux réactifs sous peu et les nouveaux réactifs seront incorporés dans les évaluations de terrain en cours.

Le Réseau espère bénéficier des expériences menées dans divers endroits au moyen des méthodes moléculaires pour la détection et l'identification directe des entérovirus non poliomyélitiques dans les échantillons coprologiques. Les données sur les méthodes moléculaires de détection des entérovirus du Japon ont été examinées par le petit groupe de travail. Des méthodes analogues peuvent être applicables à la détection directe des poliovirus et pourraient constituer une stratégie supplémentaire pour réduire la durée nécessaire à l'identification des virus importants sur le plan programmatique.

La surveillance environnementale des poliovirus est envisagée comme une stratégie supplémentaire de surveillance de la PFA à Karachi (Pakistan) et en Haïti. Au Pakistan, le but est de recenser les zones où le poliovirus sauvage se maintient au cours de la saison de faible transmission, afin de cibler des activités de vaccination pour interrompre cette transmission. En Haïti, l'objectif est de déterminer si les souches apparentées à la souche Sabin circulent dans les communautés. Il peut y avoir d'autres régions géographiques où des stratégies de surveillance supplémentaires de ce type pourraient être avantageuses.

## Expansion of GPLN responsibilities

The GPLN has been used as a model for the development of other laboratory networks working on vaccine-preventable diseases – for measles, rubella, rotavirus and yellow-fever viruses, for example. Some GPLN facilities are members of other networks, especially in cases where opportunities have been identified to share personnel or equipment or there are common infrastructure needs. Support is also provided for investigation of non-vaccine-preventable diseases; in 2008, several GPLN laboratories took part in investigations into hand, foot and mouth disease in the Western Pacific Region. The expansion of activities is actively encouraged, provided that resources specified for polio investigations are not diverted to other activities and that attention is given to maintaining the high standard of performance that is required to support the Polio Eradication Initiative.

## Conclusions and recommendations

Participants at the informal consultation concluded that 2007 had been a productive year for the GPLN and that a high quality of performance was being maintained in all WHO regions. The key achievement has been the implementation of new test algorithms, resulting in a 50% reduction in laboratory reporting times in the remaining polio-endemic regions. All GPLN facilities continue to be highly committed to the Polio Eradication Initiative, and 4 laboratories in polio-endemic regions (the Sanjay Gandhi Postgraduate Institute of Medical Sciences in India, the National Institutes of Health in Pakistan and the laboratories at the University of Ibadan and the University of Maiduguri in Nigeria) were especially commended for their ongoing efforts to meet the programme's demands despite managing high workloads.

The following recommendations for implementation were made by the GPLN.

### Improving efficiency

1. When necessary, improved laboratory efficiency should be achieved by redistributing workloads, increasing the number of laboratory staff, increasing the amount of equipment, improving management of reagents and stock, increasing the frequency of testing and the reporting of results, and improving the speed of shipping isolates for further analysis. WHO headquarters and regional offices should have contingency plans available for redistributing workloads, including the ability to identify network laboratories with extra capacity to accept samples should there be disruption of services in key laboratories.
2. In the South-East Asia Region, urgent attention should be paid to completing all activities required for full implementation of the new test algorithms, especially increasing ITD capacity and ensuring that all network laboratories are using the new data-management software. There should also be a more equitable distribution of workload among laboratories in India, and at least 2 more virus isolation laboratories should be added through the establishment of new structures or revitalization of existing GPLN facilities. These measures are considered to be essential further steps to be taken in order to improve laboratory efficiency in the South-East Asia Region.

### Timeliness of reporting

3. There is a need to clarify the method of calculating the indicator for the timeliness of reporting to en-

## Extension des responsabilités du Réseau

Le Réseau a été utilisé comme modèle pour l'élaboration d'autres réseaux de laboratoires travaillant sur des maladies à prévention vaccinale – la rougeole, la rubéole, les infections à rotavirus et la fièvre jaune, par exemple. Certains établissements du Réseau font partie d'autres réseaux, surtout dans les cas où l'on a saisi les occasions de partager du personnel ou du matériel, ou dans ceux où il existe des besoins d'infrastructure communs. Un soutien est également accordé pour l'étude des maladies non évitables par la vaccination; en 2008, plusieurs laboratoires du Réseau ont pris part à des études sur la maladie mains-pieds-bouche dans la Région du Pacifique occidental. L'extension des activités est activement encouragée, pour autant que les ressources réservées aux études sur la poliomyélite ne soient pas détournées vers d'autres activités et que l'on fasse attention à maintenir la qualité élevée des résultats, nécessaire pour appuyer l'Initiative d'éradication de la poliomyélite.

## Conclusions et recommandations

Les participants à la consultation informelle ont conclu que 2007 avait été une année productive pour le Réseau et qu'une qualité élevée des résultats avait été maintenue dans toutes les Régions de l'OMS. Les réalisations essentielles ont été la mise en œuvre des nouveaux algorithmes de tests, entraînant une réduction de 50% des délais de notification des laboratoires dans les régions d'endémie de la poliomyélite restantes. Tous les établissements du Réseau ont continué à faire preuve d'un engagement important en faveur de l'Initiative d'éradication de la poliomyélite et 4 laboratoires des régions d'endémie de cette maladie (le Sanjay Gandhi Postgraduate Institute of Medical Sciences en Inde, le National Institutes of Health au Pakistan et les laboratoires des Universités d'Ibadan et de Maiduguri au Nigéria) ont été spécialement félicités pour leurs efforts actuels visant à répondre aux demandes du programme, malgré les volumes de travail élevés qu'ils gèrent.

Le Réseau a formulé les recommandations qui suivent.

### Améliorer l'efficacité

1. Le cas échéant, améliorer l'efficacité des laboratoires en redistribuant les volumes de travail, en augmentant les effectifs et la quantité de matériel, en améliorant la gestion des réactifs et du stock, en augmentant la fréquence des tests et de la notification des résultats et en accélérant l'expédition des isolats pour analyse complémentaire. Le Siège de l'OMS et les bureaux régionaux doivent disposer de plans d'urgence pour redistribuer le travail, et doivent notamment pouvoir identifier les laboratoires du Réseau qui disposent d'une capacité supplémentaire et qui peuvent accepter des échantillons si les services sont perturbés dans les laboratoires essentiels.
2. Dans la Région de l'Asie du Sud-Est, il est urgent d'accorder de l'attention au fait de mener à bien toutes les activités nécessaires pour pouvoir pleinement mettre en œuvre les nouveaux algorithmes de tests, et surtout d'accroître les moyens nécessaires à la DIT et de faire en sorte que tous les laboratoires du Réseau utilisent le nouveau logiciel de gestion des données. Il devrait également y avoir une répartition plus équitable du volume de travail entre les laboratoires indiens et il faudrait y ajouter 2 laboratoires supplémentaires d'isolement des virus en créant de nouveaux établissements du Réseau ou en relançant des structures existantes. Ces mesures sont considérées comme essentielles si l'on veut améliorer l'efficacité des laboratoires dans la Région de l'Asie du Sud-Est.

### Respect du délai de notification

3. Il est nécessaire d'explicitement la méthode de calcul de l'indicateur propre au respect du délai de notification pour veiller à

sure consistent approaches in all regions. Time from receipt to completion of testing, and time from completion of testing to reporting, should be tracked separately. Furthermore, laboratories should be encouraged to report results as they become available and not to delay reporting in order to submit batch reports.

4. The network should continue efforts to improve communication among laboratories and WHO's regional laboratory coordinators to improve the quality and timeliness of results. The regional laboratory coordinator is the primary focal point for the laboratory and may co-opt other people or laboratories to assist in solving problems, as needed. Ineffective or insufficient communication has sometimes led to problems remaining undetected for long periods, compromising the accuracy of results provided for programme use. In particular, cell-sensitivity data should be communicated to regional coordinators within 48 hours of completing test runs. When factors that affect reporting times may be anticipated – for example, cell-sensitivity problems, shortages of reagents or supplies, or planned staff absences – their effects should be mitigated in consultation with the regional coordinator.

#### **New ITD laboratories**

5. ITD capacity should be increased in the non-endemic regions of Europe and the Western Pacific to reduce the need for intercountry shipment of polioviruses for analysis and to improve the speed of poliovirus confirmation. These regions remain at risk of VDPV circulation and wild poliovirus importation as long as oral polio vaccine is used and eradication of wild polioviruses is not achieved.
6. New ITD laboratories should be required to share ITD results with their trainers and with their regional laboratory coordinator, including complete documentation of tests performed (full worksheets, gel images, etc.), to facilitate follow-up and assistance with troubleshooting. This has proven to be invaluable in assisting laboratories to become fully accredited for ITD.
7. Accreditation visits should be completed in late 2008 for the newest ITD laboratories, whose performance should be evaluated by experienced reviewers.

#### **Laboratory procedures**

8. There is a need to standardize cell passage numbers in the GPLN. The absolute passage number should be provided whenever cells are distributed from master repositories. When distributing cells, low-passage cells should always be supplied rather than whatever is in use at the time a request is received. Additional training and follow-up are needed to ensure that cell banks are established properly.
9. Adjustments should be made to the protocol for using neutralizing antibodies to separate virus mixtures to obtain virus monotypes for testing by ELISA. The revised protocol should be distributed to network laboratories by the end of September 2008.
10. The network should continue pilot testing real-time PCR assays for ITD and VDPV screening under field conditions; the redesign of key reagents to address identified deficiencies should also continue. Pilot testing should be extended to include global special-

ce que des stratégies uniformes soient appliquées dans toutes les régions. Il faut suivre séparément la durée écoulée entre la réception de l'échantillon et l'achèvement des tests et celle écoulée entre l'achèvement des tests et la notification. En outre, les laboratoires doivent être encouragés à notifier les résultats dès qu'ils sont disponibles et à ne pas différer la notification pour pouvoir soumettre des rapports groupés.

4. Le Réseau doit poursuivre ses efforts visant à améliorer la communication entre les laboratoires et les coordonnateurs régionaux de l'OMS afin d'améliorer la qualité et la ponctualité des résultats. Le coordonnateur régional des laboratoires est le principal point focal de ces derniers et peut coopter d'autres personnes ou laboratoires pour aider à résoudre des problèmes, le cas échéant. Une mauvaise communication ou une communication insuffisante a parfois fait que des problèmes sont passés inaperçus pendant longtemps, réduisant ainsi la précision des résultats fournis pour les besoins du programme. En particulier, les données relatives à la sensibilité cellulaire doivent être communiquées aux coordonnateurs régionaux dans les 48 heures suivant la fin des tests. Lorsqu'on peut prévoir que certains facteurs vont affecter les délais de notification – par exemple, les problèmes de sensibilité cellulaire, la pénurie de réactifs ou de fournitures ou les absences prévues du personnel – leurs effets doivent être atténués en consultation avec le coordonnateur régional.

#### **Nouveaux laboratoires de DIT**

5. Les moyens nécessaires à la DIT doivent être augmentés dans les régions de non endémie d'Europe et du Pacifique occidental afin de réduire la nécessité d'expédier les poliovirus d'un pays à l'autre pour analyse et d'améliorer la vitesse avec laquelle la présence du poliovirus est confirmée. Ces régions restent des régions à risque pour la circulation de PVDV et l'importation de poliovirus sauvages tant qu'on utilisera les vaccins antipoliomyélitiques buvables et que l'éradication des poliovirus sauvages ne sera pas obtenue.
6. On demandera aux nouveaux laboratoires de DIT de communiquer leurs résultats à leurs formateurs et à leur coordonnateur régional, et notamment de joindre une documentation complète relative aux tests effectués (feuilles de calcul complétées, images des gels, etc.), afin de faciliter le suivi et l'assistance en cas de difficulté. Cela s'est avéré précieux pour aider les laboratoires à être pleinement accrédités pour la DIT.
7. Les visites d'accréditation doivent être achevées fin 2008 pour les laboratoires de DIT les plus récents, dont les résultats vont être évalués par des examinateurs confirmés.

#### **Méthodes de laboratoire**

8. Il est nécessaire de normaliser le nombre de passages cellulaires dans le Réseau. Le nombre absolu de passages doit être fourni chaque fois que des cellules sont distribuées à partir de banques de cellules mères. Lorsqu'on distribue les cellules, on fournira toujours des cellules ayant subi peu de passages plutôt que celles utilisées au moment où la demande est reçue. Une formation et un suivi supplémentaires sont nécessaires pour veiller à ce que les banques de cellules soient mises sur pied correctement.
9. On procèdera à des ajustements du protocole pour utiliser des anticorps neutralisants afin de séparer les mélanges de virus et d'obtenir des monotypes viraux que l'on testera par ELISA. Le protocole révisé doit être distribué aux laboratoires du Réseau d'ici la fin septembre 2008.
10. Le Réseau doit poursuivre les tests pilotes de la PCR en temps réel pour la DIT et le dépistage des PVDV dans les conditions du terrain; la redéfinition des réactifs essentiels pour remédier à des insuffisances recensées doit également se poursuivre. Les tests pilotes doivent être étendus aux

ized laboratories, and the target for completion of evaluation and pilot studies should be the end of September 2008. Provided that the real-time PCR assays perform satisfactorily, implementation should proceed in a phased manner, by WHO region, over a 2-year period. Implementation will require mobilization of resources for training personnel, equipping laboratories and updating databases.

11. The network should continue to encourage the development, evaluation and implementation of new laboratory methods to improve the quality and timeliness of data provided to the programme – for example, by evaluating methods for the direct detection of poliovirus in stool samples.
12. The GPLN should develop a plan to implement supplementary surveillance for polioviruses. This approach may be useful in identifying wild poliovirus reservoirs in areas where AFP surveillance is suspected to be weak. Lead-time will also be needed so that functional environmental or other surveillance systems can be put in place for the post-wild poliovirus eradication era, when AFP surveillance systems may be difficult to sustain.

#### **Quality assurance and quality control of sequencing**

13. A standard protocol should be developed to inactivate virus for shipment to a sequencing laboratory – for example, by spotting onto filter paper – in cases where it is logistically challenging or not possible to ship infectious agents.
14. The network should include evaluation of sequencing performance in WHO's accreditation programme, including establishing target times for providing results and measures for quality control.
15. The network should standardize approaches among laboratories for summarizing VP1 sequence data, especially in situations of expanding genetic diversity.

#### **Characterization of VDPV**

16. Characterization of VDPVs and vaccine-related viruses with 5–9 nucleotide changes from the parental Sabin strain should be standardized to allow comparison of viruses isolated and characterized in different laboratories. Expansion of the sequencing window to include the complete capsid, as well as analysis of non-capsid sequences, may be required in certain situations. Sequences should be analysed in the context of epidemiological data and should include both non-Sabin-like and Sabin-like viruses that may be detected in a given situation.

#### **Advocacy and expansion**

17. WHO must continue to advocate with national governments and partner agencies for continued support of polio network laboratories.
18. The expansion of laboratory support to include other diseases should be pursued in ways that do not divert resources specified for polio eradication, and there must be allocation of adequate resources for coordination of any additional activities.
19. Given the importance of monitoring ongoing development projects within the GPLN, WHO should convene an ad hoc meeting of the small working group by January 2009. ■

laboratoires spécialisés mondiaux, et la cible visée pour l'achèvement de l'évaluation et des études pilotes doit être la fin septembre 2008. Pour autant que la PCR en temps réel donne des résultats satisfaisants, sa mise en œuvre devrait se dérouler progressivement, par Région de l'OMS, sur 2 ans. Il faudra pour cela mobiliser des ressources afin de former le personnel, d'équiper les laboratoires et de mettre à jour les bases de données.

11. Le Réseau doit continuer à encourager le développement, l'évaluation, et la mise en œuvre de nouvelles méthodes de laboratoire pour améliorer la qualité et la ponctualité des données fournies au programme – par exemple en évaluant des méthodes de détection directe du poliovirus dans les échantillons coprologiques.
12. Le Réseau doit élaborer un plan de mise en œuvre d'une surveillance supplémentaire des poliovirus. Cette stratégie pourrait s'avérer utile pour recenser les réservoirs de poliovirus sauvages dans les zones où l'on soupçonne que la surveillance de la PFA est médiocre. Un temps de battement sera également nécessaire pour que les systèmes environnementaux fonctionnels ou les autres systèmes de surveillance puissent être mis en place pour l'ère postvaccinale, lorsque les systèmes de surveillance de la PFA seront peut-être difficiles à maintenir.

#### **Assurance de la qualité et contrôle de la qualité du séquençage**

13. Un protocole standard devra être élaboré pour inactiver les virus à expédier vers un laboratoire de séquençage – par exemple en les déposant sur du papier filtre – dans les cas où il est difficile ou impossible sur le plan logistique d'expédier des agents infectieux.
14. Le Réseau doit faire figurer l'évaluation des résultats du séquençage dans le programme d'accréditation de l'OMS, notamment en fixant des délais limites pour fournir les résultats et les mesures destinés au contrôle de la qualité.
15. Le Réseau doit normaliser les méthodes utilisées par les laboratoires pour récapituler les données relatives à la séquence VP1, surtout dans les situations où la diversité génétique s'accroît.

#### **Caractérisation des PVDV**

16. La caractérisation des PVDV et des virus apparentés aux virus vaccinaux au moyen de 5 à 9 modifications nucléotidiques par rapport à la souche Sabin parentale doit être normalisée pour permettre la comparaison des virus isolés et caractérisés dans différents laboratoires. L'élargissement de la «fenêtre» de séquençage pour y inclure la capside entière et l'analyse de séquences non capsidiques peuvent être nécessaires dans certaines situations. Les séquences doivent être analysées dans le contexte des données épidémiologiques et doivent porter à la fois sur des virus de type Sabin et d'autres qui ne le sont pas, susceptibles d'être détectés dans une situation donnée.

#### **Sensibilisation et extension**

17. L'OMS doit continuer à sensibiliser les gouvernements nationaux et les organismes partenaires afin qu'ils poursuivent leur soutien aux laboratoires du Réseau pour la poliomyélite.
18. L'extension du soutien de laboratoire pour y inclure d'autres maladies doit se poursuivre sans pour autant détourner des ressources spécifiquement affectées à l'éradication de la poliomyélite, et il faut prévoir une allocation de ressources suffisantes pour la coordination de toutes les activités supplémentaires.
19. Parce qu'il est important de surveiller les projets de développement en cours au sein du Réseau, l'OMS devra convoquer une réunion du petit groupe de travail spécial d'ici janvier 2009. ■