

INFLUENZA DIAGNOSIS – FROM RAPID TESTING TO POLYMERASE CHAIN REACTION PCR IN THE PACIFIC



Respiratory virus diagnosis depends on the collection of high-quality specimens, their rapid transport to a laboratory and appropriate storage before laboratory testing. A virus is best detected in specimens containing infected cells and secretions. Specimens should be taken as soon as possible after the onset of clinical symptoms.

Essential elements of accurate and precise sample collection for influenza testing

- ▶ Patient clinically presenting with the ILI case definition (fever $>38^{\circ}\text{C}$, with at least one other sign /symptom: cough, sore throat, headache, chills, body ache)
- ▶ Time of collection (0–4 days after onset of illness)
- ▶ Appropriate site of collection (nasopharynx)
- ▶ Appropriate swab for sample collection (Dacron swabs)
- ▶ Appropriate transport container for sample to the laboratory (cold chain)

Rapid test kits

Rapid influenza diagnostic tests can help in the diagnosis and management of patients who present with signs and symptoms compatible with influenza. Such tests detect seasonal influenza A and B viral nucleoprotein antigens in respiratory specimens. The reliability of rapid influenza diagnostic tests depends largely on the conditions under which they are used, and are entirely based on the experience with seasonal influenza (see article on page 30 for further information on sensitivity and specificity of this methodology).

DIAGNOSTIC DE LA GRIPPE – DES TESTS RAPIDES À LA TECHNIQUE D'AMPLIFICATION GÉNIQUE (PCR) DANS LE PACIFIQUE



Le diagnostic des virus respiratoires dépend de la qualité des échantillons prélevés, de la rapidité de leur acheminement au laboratoire et des conditions dans lesquelles ceux-ci sont conservés avant la réalisation des tests. La détection d'un virus se fait de préférence à partir d'échantillons de cellules infectées et de sécrétions. Ces échantillons doivent être prélevés aussitôt après l'apparition des symptômes cliniques.

Conditions essentielles pour le prélèvement d'échantillons de qualité aux fins de recherche des virus grippaux

- ▶ Patient répondant à la définition de cas de syndrome grippal du point de vue clinique (fièvre supérieure à 38°C , accompagnée d'au moins un autre signe/symptôme : toux, mal de gorge, céphalée, frissons, courbatures)
- ▶ Délai de prélèvement réduit (0–4 jours après l'apparition de la maladie)
- ▶ Type de prélèvement approprié (rhinopharyngé)
- ▶ Type d'écouvillon approprié (écouvillon en dacron)
- ▶ Type de conteneur approprié pour le transport des échantillons au laboratoire (chaîne du froid)

Tests de diagnostic rapide

Les tests de diagnostic rapide de la grippe, ou TDR grippe, peuvent permettre d'établir un diagnostic, et de traiter les patients présentant des signes et des symptômes caractéristiques d'une grippe. Ces tests permettent de détecter les antigènes nucléoprotéiniques de la grippe saisonnière de type A et B présents dans les prélèvements respiratoires. La fiabilité des TDR grippe dépend en grande partie des conditions dans lesquelles ceux-ci sont utilisés ; elle a été entièrement démontrée en ce qui concerne la grippe saisonnière (pour de plus amples informations sur la sensibilité et la spécificité de ces tests, voir article page 30).

Immunofluorescence microscopy

Immunofluorescence microscopy (IFA) was introduced by the project, as it was more sensitive and more specific than the rapid test kits available. The challenge that came with IFA microscopy was sustaining the skill of the technicians, as specimens trickled into the laboratory and did not provide regular testing opportunities to the trained personnel. Currently, fifty per cent of the 15 sites in 14 PICTs use the technique, and continuously perform the external quality assessment (EQA) panel sent out annually from WHO Collaborating Centre in Melbourne (see article on page 30 for further information on sensitivity and specificity of this methodology).



Immunofluorescence

La technique de l'immunofluorescence a été développée dans le cadre du projet, car elle a une sensibilité et une spécificité supérieures à celles des TDR disponibles. Elle a cependant posé le problème du maintien des compétences des techniciens, étant donné que les échantillons arrivaient au compte-gouttes au laboratoire et que le personnel formé n'avait pas régulièrement la possibilité d'y

avoir recours. À l'heure actuelle, sur les 15 laboratoires des 14 États et Territoires insulaires océaniques concernés par le projet, la moitié recourt à l'immunofluorescence et effectue régulièrement des tests d'évaluation externe de la qualité des analyses de laboratoire sur les séries d'échantillons envoyées annuellement par le centre collaborateur de l'OMS à Melbourne (pour tout complément d'information sur la sensibilité et la spécificité de cette technique, voir article page 30).

Molecular diagnosis

Mataika House in Fiji and the Pasteur Institute of New Caledonia (both Level 2 reference laboratories), the Malardé Institute in French Polynesia and Papua New Guinea Public Health Laboratory currently use reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR) for influenza diagnosis and provide confirmation to neighbouring PICTs when needed. These laboratories are well established and have EQA programmes to support their diagnostic capacity. There are other, smaller laboratories in the region that have acquired PCR machines but establishing their set-up requires assessments and training.

As a PPHSN/LabNet Level 2 reference laboratory in the north Pacific, Guam Public Health Laboratory (GPHL) is expecting to commence PCR influenza testing on patient specimens in April 2012 using the Cepheid Xenexpert methodology. Discussions and plans are under way with Centers for Disease Control and Prevention (CDC) and the Association of Public Health Labs (APHL) for the installation and training on the CDC PCR assay for the detection of H1, H3 and H5. Once this CDC assay is ready to be rolled out, GPHL will be eligible to enrol in the WHO Global Influenza Proficiency programme coordinated by the Hong Kong Public Health Lab. GPHL also plans to offer an influenza testing service to neighbouring territories — Northern Mariana Islands, Palau, Federated States of Micronesia and Marshall Islands — before the end of 2012.

Salanieta Elbourne Duituturaga
Laboratory Specialist, SPC
Email: salae@spc.int

Diagnostic moléculaire

Le laboratoire Mataika House des Fidji et l'Institut Pasteur de Nouvelle-Calédonie (tous deux des laboratoires de référence de niveau 2), l'Institut Malardé de Polynésie française et le laboratoire de santé publique de Papouasie-Nouvelle-Guinée utilisent la technique d'amplification génique (RT-PCR) à des fins de diagnostic de la grippe ou de confirmation de résultats envoyés par les États et Territoires insulaires océaniques voisins, le cas échéant. Ces laboratoires ont acquis une bonne renommée et participent à des programmes d'évaluation externe de la qualité afin d'étayer leurs capacités de diagnostic. Dans la région, d'autres petits laboratoires ont acquis des thermocycleurs, mais leur paramétrage nécessite des évaluations et des formations.

En tant que laboratoire de référence de niveau 2 du réseau LabNet du ROSSP dans le Pacifique Nord, le laboratoire de santé publique de Guam devrait commencer à effectuer des tests de diagnostic de la grippe par PCR sur des échantillons de cas suspects, en utilisant le système GeneXpert® System de Cepheid, à compter d'avril 2012. Des discussions ont été engagées avec les Centres de lutte contre la maladie (CDC) et l'Association des laboratoires de santé publique, et des plans sont en cours d'élaboration en vue de la mise en œuvre d'une méthode PCR développée par les CDC à des fins de détection des virus des sous-types H1, H3 et H5, et de la formation du personnel. Une fois qu'il sera en mesure de réaliser ce test, le laboratoire de santé publique de Guam remplira les conditions requises pour prendre part au programme mondial OMS d'évaluation de la qualité des analyses, coordonné par le laboratoire de santé publique de Hong Kong. Le laboratoire de santé publique de Guam prévoit également de proposer un service de dépistage de la grippe aux États et Territoires voisins (Îles Mariannes du Nord, Palau, États fédérés de Micronésie et Îles Marshall) d'ici à la fin de l'année 2012.

Salanieta Elbourne Duituturaga
Spécialiste des techniques de laboratoire, CPS
Courriel: salae@spc.int