

Expanded Programme on Immunization (EPI)

Standardization of the nomenclature for describing the genetic characteristics of wild-type measles viruses

A meeting was organized by EPI at WHO in Geneva on 26-27 May 1998 to discuss standardization of the nomenclature for describing the genetic characteristics of wild-type measles viruses. Measles genomic sequencing is an important tool to assist in the understanding of the epidemiology of measles, particularly in countries where measles elimination efforts are taking place. Molecular epidemiological studies become more relevant given the technical feasibility of global eradication of wild-type measles virus.

Although measles is considered to be a monotypic virus, sequence analysis has shown that distinct lineages of wild-type viruses exist and cocirculate. Most of the studies to describe the genetic characteristics of wild-type measles viruses have been conducted by sequencing the genes coding for the hemagglutinin (H) protein and/or the nucleoprotein (N). Of the 6 genes on the viral genome, the H and N genes are the most variable. Over their protein coding regions, the H and N genes contain up to 7% variability at the nucleotide level. The single most variable part of the measles genome is the 450 nucleotides that code for the COOH-terminus of the N protein where nucleotide variability can approach 12% between various wild-type viruses. Many laboratories have conducted sequence analysis of wild-type measles viruses and assigned the viruses to various genetic groups.

The availability of an extensive sequence database for wild-type measles viruses has made molecular epidemiological studies of measles possible. These molecular epidemiological studies have made significant contributions to measles control efforts by enabling investigators to identify the source and transmission pathways of the virus and to monitor circulating viral strains. These data have also been used to document the interruption of measles transmission in some areas, and should provide a powerful means to

Programme élargi de vaccination (PEV)

Nomenclature relative à la description des caractéristiques génétiques des virus rougeoleux sauvages: standardisation

Une réunion a été organisée par le PEV à l'OMS à Genève les 26 et 27 mai 1998 sur la standardisation de la nomenclature relative à la description des caractéristiques génétiques des virus rougeoleux sauvages. Le séquençage du génome du virus rougeoleux est un outil important dans la compréhension de l'épidémiologie de la rougeole, notamment dans les pays où sont déployés des efforts pour tenter d'éliminer cette maladie. L'épidémiologie moléculaire a un intérêt croissant en raison de la faisabilité technique de l'éradication du virus rougeoleux sauvage à l'échelle mondiale.

Si l'on estime qu'il n'existe qu'un seul type de virus, le séquençage a toutefois montré que des lignées distinctes de virus sauvages existent et cocirculent. La plupart des travaux ayant pour objet de décrire les caractéristiques génétiques des virus rougeoleux sauvages ont consisté à séquencer les gènes codant pour l'hémagglutinine (H) et/ou la nucléoprotéine (N). Parmi les 6 gènes que compte le génome viral, les gènes H et N sont les plus variables. Dans les régions codant les protéines, la variabilité nucléotidique atteint 7% pour les gènes H et N. La région la plus variable du génome rougeoleux est la séquence de 450 nucléotides codant l'extrémité C-terminale de la protéine N, dans laquelle la variabilité des nucléotides est parfois voisine de 12% d'un virus sauvage à l'autre. Un grand nombre de laboratoires ont réalisé des séquençages de virus rougeoleux sauvages et les ont classés dans divers groupes génétiques.

Il existe une très grande banque de séquences pour les virus rougeoleux sauvages, ce qui a permis d'aborder l'épidémiologie moléculaire de la rougeole. Ces études ont fortement contribué aux actions de lutte antirougeoleuse en permettant aux chercheurs d'identifier la source et les voies de transmission du virus, et de surveiller les souches virales circulantes. Ces données ont en outre servi à documenter l'interruption de la transmission dans certains secteurs et devraient être un outil d'évaluation puissant de l'efficacité des stratégies de lutte antirougeoleuse. La surveillance virolo-

assess the efficacy of measles control strategies. Virological surveillance will be a key laboratory component of future measles surveillance activities. Until now, there was no universally accepted scheme to describe the various genetic groups of measles virus. Neither was there a uniform analysis protocol or centralized database, so that data generated by one laboratory may not be comparable to data generated elsewhere. Therefore, the main goals of the meeting were to provide guidelines for describing the major genetic groups of measles virus and to establish uniform analysis protocols. As more laboratories begin to participate in strain characterization, it will be necessary to adopt an accepted standard protocol. This standardization will allow for more efficient communication between the various laboratories conducting molecular characterization of wild-type strains and will provide epidemiologists and public health officials from international, national and local agencies with a uniform nomenclature to describe cases, outbreaks and epidemics.

Convention for naming strains

The strain names will provide information that is essential for interpretation of the molecular data. Since sequence data may be derived from viruses isolated in cell culture or from RNA extracted directly from clinical material, strains or sequences will be designated as either:

- (1) MVi: measles virus isolate in cell culture; or
- (2) MVs: measles virus sequence derived from RNA extracted from clinical material.

Other information to be included in the strain/sequence name:

- city of isolation, write whole name or abbreviation (required);
- country, use WHO 3-letter designation (required);
- date of specimen collection by epidemic week (1-52) and year (required);
- isolate number if more than 1 per week (optional);
- genotype (optional initially, required after sequencing of at least 450 nucleotides of the N gene is completed);
- special designation for sequences derived from measles inclusion body encephalitis (MIBE) or subacute sclerosing panencephalitis (SSPE) cases (optional).

The following examples illustrate the proposed nomenclature;

- MVi/NewYork.USA/03.98/2 [D2];
- MVs/London.UNK/17.97 [G3] SSPE.

Epidemiology and logistics

It is important to include viral surveillance in all measles surveillance activities. Attempts should be made to obtain specimens for virus isolation at each phase of the measles control/elimination programme, at the same time that serum samples are being obtained for serological diagnosis. So that the molecular data can be interpreted properly, epidemiological data must accompany all clinical specimens. These data should include location, date and type of specimen, date of rash onset, clinical presentation, age of patient, vaccine history and vaccination date.

gique donnera une place considérable au laboratoire dans les futures activités de surveillance de la rougeole. Il n'existait jusqu'ici pas de schéma universellement accepté pour décrire les divers groupes génétiques du virus rougeoleux. Il n'existait pas non plus de protocole d'analyse uniforme ni de base de données centralisée, ce qui gênait la comparabilité des données obtenues dans différents laboratoires. Les principaux objectifs de la réunion étaient donc de mettre au point un schéma de description des principaux groupes génétiques de virus rougeoleux et de définir un protocole d'analyse uniformisé. Les laboratoires qui participent à la caractérisation des souches étant de plus en plus nombreux, il sera nécessaire d'adopter un protocole standardisé accepté. Une telle standardisation permettra aux laboratoires qui procèdent à la caractérisation moléculaire des souches sauvages de communiquer plus efficacement, et aux épidémiologistes et aux responsables de la santé publique des organismes internationaux, nationaux et locaux, de disposer d'une nomenclature uniforme pour décrire les cas, les flambées épidémiques et les épidémies.

Convention concernant la désignation des souches

La désignation des souches doit fournir une information indispensable à l'interprétation des données moléculaires. Les données relatives aux séquences pouvant être obtenues à partir de virus isolés en culture cellulaire ou à partir d'ARN extrait directement de matériel clinique, les souches ou les séquences seront donc désignées de la manière suivante:

- 1) MVi: isolement de virus rougeoleux en culture cellulaire; ou
- 2) Mvs: séquence de virus rougeoleux obtenue à partir d'ARN extrait de matériel clinique.

D'autres informations doivent figurer dans la désignation de la séquence/de la souche:

- ville où a été pratiqué l'isolement: nom en entier ou en abrégé (obligatoire);
- pays: utiliser la désignation OMS en 3 lettres (obligatoire);
- date de recueil du prélèvement : numéro de la semaine (1-52) et année (obligatoire);
- numéro de l'isolement s'il en existe plus d'un par semaine (facultatif);
- génotype (facultatif au début, obligatoire après le séquençage d'au moins 450 nucléotides du gène N);
- désignation particulière pour les séquences obtenues à partir de cas d'encéphalite postrougeoleuse à inclusions (en anglais MIBE = *measles inclusion body encephalitis*) ou de panencéphalite sclérosante subaiguë (PESS) (en anglais SSPE = *subacute sclerosing panencephalitis*) (facultatif).

Les exemples suivants sont conformes à la nomenclature proposée:

- Mvi/NewYork.USA/03.98/2 [D2];
- Mvs/London.UNK/17.97[G3] SSPE.

Epidémiologie et logistique

La surveillance virale doit impérativement faire partie de toutes les activités de surveillance de la rougeole. On essaiera, pour procéder à l'isolement du virus, d'obtenir des prélèvements à chacune des étapes du programme de lutte et d'élimination concernant la rougeole, au moment où sont réalisés les prélèvements destinés au diagnostic sérologique. Pour pouvoir interpréter correctement les données moléculaires, tous les échantillons cliniques doivent être accompagnés des données épidémiologiques. On peut citer notamment le lieu, la date et le type de prélèvement, la date de début de l'éruption, le tableau clinique, l'âge du patient, les antécédents vaccinaux et la date de vaccination.

The WHO global laboratory network for measles will be based on a 3-tiered system similar to the one currently in place for polio. This includes national, regional and global reference laboratories. These laboratories will support serological diagnosis of measles infection and virus isolation. The national laboratories will support the collection of specimens for virus isolation and possibly perform virus isolation in cell culture. Global laboratories will provide quality assurance of national and regional laboratories by supplying standardized reference reagents, and regular proficiency tests, and by assessing laboratory performance. Regional reference laboratories will serve as reference centres for the national laboratories in their areas and provide them with training, advice and quality control. Sequencing and other molecular techniques will most likely be performed at the global laboratory level and in some of the regional reference laboratories.

WHO is developing a laboratory manual for measles that will include detailed instructions for obtaining clinical specimens and describe what types of specimens to obtain and which test to use. This sampling schedule will be based on local response/attitude towards sampling, and on the availability of materials for collection, shipping and storage. The number of specimens to be taken will depend on the extent of measles activity. In all cases, it is imperative that all appropriate epidemiological data be collected and linked to the clinical specimen. The standard WHO case-report form will be used to record the epidemiological data and to give each specimen a unique ID number.

The WHO measles strain bank has been established at the measles virus section of the Centers for Disease Control and Prevention (CDC) to acquire, analyse, store and dispense representative strains. An additional strain bank will be designated in the near future. Measles virus strains will be made available to all researchers without requirements for material transfer agreements. The WHO strain bank will supply only wild-type viral isolates and samples of some vaccine strains. In addition, sequence data for all reference strains and deposited wild-type strains will be available from the WHO strain bank or through GenBank.¹ Laboratories may submit viral isolates to the bank with or without sequence data. In the latter case, the bank will perform sequence analysis. Clinical specimens may also be submitted to the bank for testing. If virus isolation is successful, representative strains will be sequenced and entered into the bank. The strain bank will provide CDC import permits to facilitate the shipment of strains and clinical specimens.

Sequencing and laboratory issues

Isolation of measles from clinical specimens should be attempted and the goal is to obtain representative isolates from each chain of transmission in endemic areas. Until a suitable alternative cell line is found, virus isolation should be performed in B95a cells. Once a virus has been isolated in a particular cell line, it is recommended that subsequent passages be in the same cell line. When appropriate, RT-PCR can be used to amplify measles genes directly from clinical specimens.

¹ GenBank is the genetic sequence database (for all publicly available DNA sequences) of the National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, United States of America.

Le réseau mondial de laboratoires OMS pour la lutte antirougeoleuse sera constitué comme celui qui existe déjà pour la poliomyélite, avec une structure en 3 degrés et des laboratoires de référence nationaux, régionaux et mondiaux. Ces laboratoires prendront en charge le diagnostic sérologique de la rougeole et l'isolement du virus. Les laboratoires nationaux auront pour tâche le recueil des prélèvements en vue de l'isolement du virus et, éventuellement, la réalisation de l'isolement en culture cellulaire. Les laboratoires mondiaux garantiront l'assurance de qualité des laboratoires nationaux et régionaux en leur fournissant des réactifs de référence standardisés, en procédant régulièrement à des tests d'aptitude, et en évaluant la qualité de leur pratique. Les laboratoires de référence régionaux joueront le rôle de centres de référence pour les laboratoires nationaux de leur région en assurant la formation, le conseil et le contrôle de qualité. Les techniques moléculaires, notamment le séquençage, seront très probablement réalisées au niveau du laboratoire mondial et dans certains laboratoires de référence régionaux.

L'OMS a entrepris la mise au point d'un manuel de laboratoire donnant des instructions détaillées sur la manière de recueillir les prélèvements cliniques, qui décrit aussi le type de prélèvement à effectuer et indique le test à utiliser. Le protocole d'échantillonnage sera fonction des réponses/attitudes locales vis-à-vis du recueil d'échantillons, et du matériel disponible pour le recueil, l'envoi et la conservation des prélèvements. Le nombre de prélèvements à effectuer doit dépendre de l'ampleur de l'activité rougeoleuse. Il est impératif que toutes les données épidémiologiques appropriées soient recueillies et jointes au prélèvement clinique dans tous les cas. La fiche de déclaration standardisée de l'OMS sera utilisée pour enregistrer les données épidémiologiques et attribuer à chaque prélèvement un numéro unique d'identification.

La banque de souches de virus rougeoleux de l'OMS a été installée au sein de la section concernant le virus rougeoleux des *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC); son but est d'acquérir, d'analyser, de conserver et de distribuer les souches représentatives. Une nouvelle banque de souches sera ultérieurement désignée. Les souches de virus rougeoleux seront mises à la disposition de tous les chercheurs, sans que des accords de transfert de matériel soient nécessaires. La banque de souches de l'OMS ne fournira que des isollements de virus sauvages et des échantillons de certaines souches vaccinales. On pourra en outre se procurer auprès de la banque de souches de l'OMS ou de la GenBank¹ les données du séquençage de toutes les souches de référence et toutes les souches sauvages déposées. Les laboratoires pourront adresser des isollements viraux à la banque, accompagnés ou non des données du séquençage. Dans ce dernier cas, la banque procédera au séquençage. Les prélèvements cliniques peuvent également être adressés à la banque en vue d'être testés. Si l'on parvient à isoler le virus, les souches représentatives seront séquencées et incluses dans la banque. La banque de souches accordera aux CDC des autorisations d'importer, pour faciliter l'envoi des souches et des prélèvements cliniques.

Questions relatives au séquençage et au laboratoire

Il faut essayer d'isoler le virus rougeoleux à partir des prélèvements cliniques, le but étant d'obtenir des isollements représentatifs correspondant à chaque chaîne de transmission des secteurs d'endémie. Jusqu'à ce qu'on dispose d'une autre lignée cellulaire adaptée, l'isolement du virus sera fait sur cellules B95a. Une fois le virus isolé sur une lignée cellulaire donnée, il est recommandé de procéder aux repiquages ultérieurs avec la même lignée. Si indiqué, on se servira de la RT-PCR pour amplifier les gènes viraux directement à partir des prélèvements cliniques.

¹ GenBank est la banque de séquences génétiques (qui regroupe toutes les séquences d'ADN à la disposition du public) des *National Institutes of Health* de Bethesda, Maryland, États-Unis d'Amérique.

The minimum amount of sequence data required for genotyping a measles virus isolate or clinical specimen will be the 450 nucleotides that code for the COOH-terminal or 150 amino acids of the N protein. Complete H gene sequences will be obtained from representative strains. The minimum amount of sequence information that should be submitted to GenBank should be at least the 450 nucleotides coding for the COOH-terminus of the N protein. The strain or sequence designation described above should be included as an identifier in the GenBank entry. It is suggested that the GenBank entries of especially the most recently isolated wild-type viruses be updated to reflect the new nomenclature. Various laboratories will submit RT-PCR and sequencing protocols to WHO. This will provide a protocol bank to be used by all investigators for designing primers and setting experimental conditions.

Sequence analysis

Use of any one of several widely available computer programmes for phylogenetic analysis is acceptable. However, the comparison should always be done using a set of designated reference sequences representing the different genotypes. These reference strains are listed in *Table 1*. The terms, clades and genotypes will be used. For molecular epidemiological purposes, the genotype designations will be the operational taxonomic unit while the clades will be used to indicate the relationship between the various genotypes. Based on currently available published and unpublished information, there are 8 clades designated A, B, C, D, E, F, G, H. Within these 8 clades, there are 15 genotypes designated A, B1, B2, C1, C2, D1, D2, D3, D4, D5, D6, E, F, G, H. Some clades contain only 1 genotype and, in this case, the clade and genotype designation will be the same. Other clades, such as clade D, contain multiple genotypes which will be designated by using the clade letter and genotype number. Several of the genotypes (E, F, G, D1), appear to be extinct or inactive but, since measles surveillance is poor at present, their sequences will be included in the set of reference sequences for completeness.

La séquence minimale nécessaire pour génotyper un isolement de virus rougeoleux ou un prélèvement clinique sera représentée par les 450 nucléotides codant l'extrémité C-terminale ou 150 acides aminés de protéine N. Le gène H des souches représentatives sera entièrement séquencé. Les données minimales du séquençage à fournir à la GenBank sont représentées par les 450 nucléotides codant l'extrémité C-terminale de la protéine N. La désignation de la souche ou de la séquence telle qu'elle est indiquée plus haut doit figurer comme identifiant dans l'entrée de la GenBank. Il est proposé de mettre à jour les entrées de cette banque, et notamment celles concernant les virus sauvages isolés dernièrement, pour les rendre conformes à la nouvelle nomenclature. Divers laboratoires auront à soumettre à l'OMS des protocoles applicables à la RT-PCR et au séquençage. On disposera ainsi d'une banque de protocoles utilisables par l'ensemble des chercheurs pour mettre au point des amorces et définir les conditions expérimentales.

Séquençage

N'importe lequel des programmes informatisés largement disponibles pour l'analyse phylogénétique est acceptable. Cependant, il est toujours souhaitable que la comparaison soit établie au moyen d'une batterie de séquences de référence désignées, représentant les différents génotypes. Les souches de référence sont indiquées au *Tableau 1*. Les termes de clade et de génotype seront utilisés. Pour les besoins de l'épidémiologie moléculaire, la désignation du génotype sera l'unité taxonomique opérationnelle, tandis que les clades serviront à indiquer la relation entre les divers génotypes. D'après les données existantes, publiées ou non, il existe 8 clades désignés par les lettres A, B, C, D, E, F, G, H. Ces 8 clades représentent 15 génotypes désignés par A, B1, B2, C1, C2, D1, D2, D3, D4, D5, D6, E, F, G, H. Certains clades ne comportent qu'un seul génotype et la désignation du clade et du génotype est alors identique. D'autres, comme le clade D, sont représentés par plusieurs génotypes, désignés par la lettre du clade suivie d'un numéro pour le génotype. Plusieurs génotypes (E, F, G, D1) semblent être disparus ou inactifs, mais la surveillance de la rougeole étant à l'heure actuelle insatisfaisante, ces séquences seront incluses dans la batterie de séquences de référence pour que celle-ci soit complète.

Table 1 Reference strains to be used for genetic analysis of wild-type measles viruses

Previous designations Désignation antérieure	New Actuelle	Activity Activité	Reference strains (MVi) Souches de référence (MVi)	H gene accession number Numéro d'accension au gène H	N gene accession number Numéro d'accension au gène N
---	-----------------	----------------------	---	--	--

Tableau 1 Souches de référence pour l'analyse génétique des virus rougeoleux sauvages

预览已结束，完整报告链接和二维码如下：

https://www.yunbaogao.cn/report/index/report?reportId=5_30588

