

Reunión Regional con Jefes de Programas de Malaria

14-16 de noviembre, 2018

Washington DC

DIAGNOSTICO DE MALARIA: HERRAMIENTAS

**PDR: detección de infecciones de baja densidad
HRP2/HRP3**

Maria Paz Ade

Asesora, Diagnostico y Gestión de Suministros de Malaria
OPS/OMS WDC



Pan American
Health
Organization



World Health
Organization

REGIONAL OFFICE FOR THE

Americas



MICROSCOPÍA (gold standard): Visualización del parásito



Pan American
Health
Organization



World Health
Organization

REGIONAL OFFICE FOR THE
Americas

Recomendaciones de la OMS

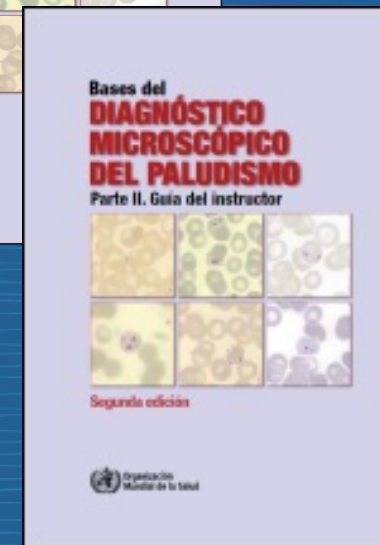
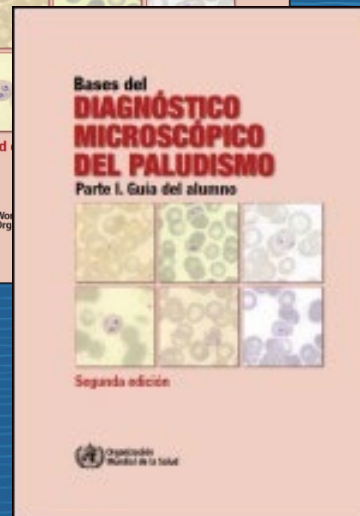
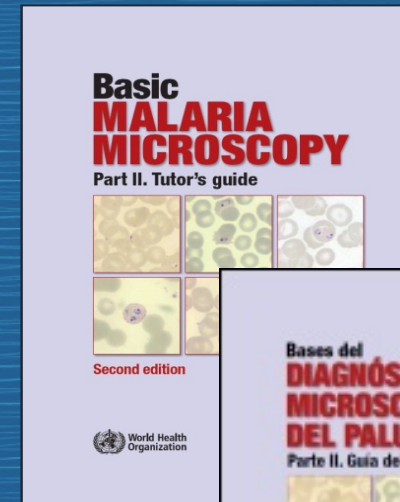
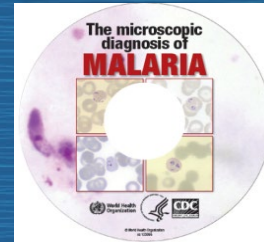
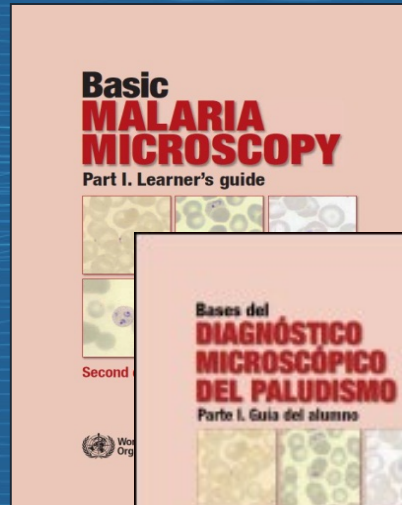
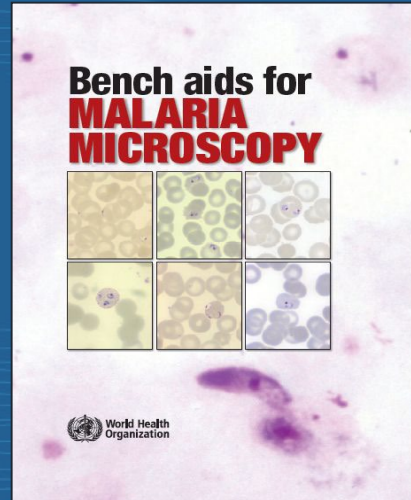


Recomendación #1

- La **microscopía y las PDR** con calidad asegurada son las principales herramientas de diagnóstico para la **confirmación y el manejo de casos clínicos sospechosos de malaria en todas las situaciones epidemiológicas**, incluyendo áreas de baja transmisión, debido a su alto desempeño en la detección de casos de malaria, su amplia disponibilidad y su relativo bajo costo. Así también, las **PDR y la microscopía** son herramientas apropiadas para la **vigilancia rutinaria** de la malaria en la mayoría de las áreas endémicas para esta enfermedad.

Recomendaciones #2...6 (relacionadas a Técnicas de Amplificación del Acido Nucleico - NAAT)

Documentos de la OMS - Microscopía





PRUEBA DE DIAGNOSTICO RAPIDO PARA MALARIA

PDR: detección por presencia de antígeno
parasitario, (aldolasa, pLDH, HRP2)



Pan American
Health
Organization



World Health
Organization

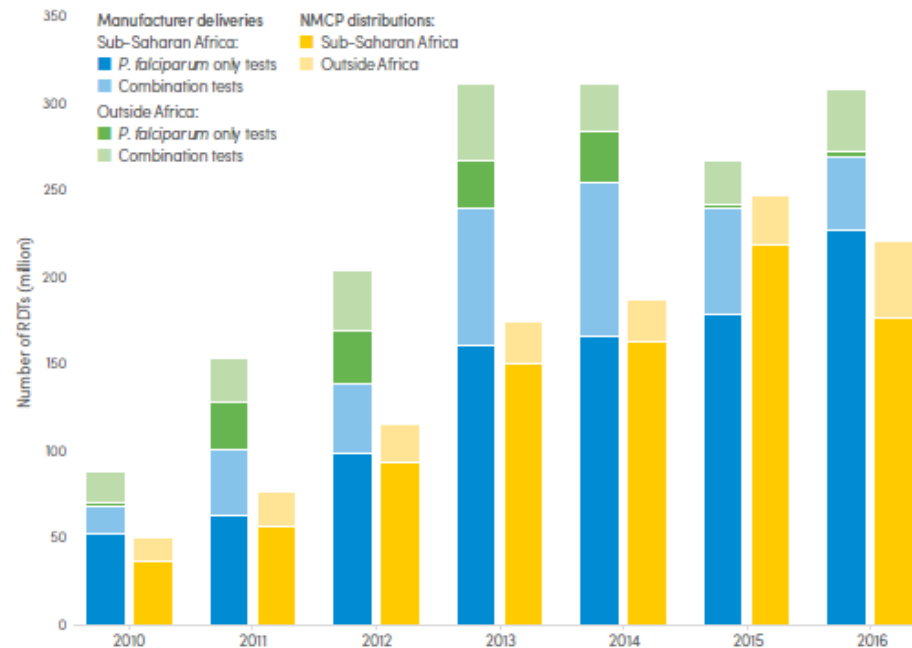
REGIONAL OFFICE FOR THE
Americas

Tendencias de los test realizados/vendidos



FIG. 2.7.

Number of RDTs sold by manufacturers and distributed by NMCPs, 2010–2016 Sources: *National malaria control programme reports and sales data from manufacturers eligible for the Malaria Rapid Diagnostic Test Product Testing Programme run by WHO*



NMCP, national malaria control programme; *P. falciparum*, *Plasmodium falciparum*; RDT, rapid diagnostic test

Table 2. Microscopy and RDT use in the Region of the Americas, 2000-2014

Year	Blood smears examined	RDTs Examined
2000	9,793,737	
2001	9,205,342	0
2002	9,025,164	0
2003	8,414,602	0
2004	8,365,723	5,000
2005	12,660,369	8,500
2006	9,270,303	30,063
2007	9,390,226	57,078
2008	8,193,079	46,253
2009	8,124,331	121,048
2010	8,455,652	66,843
2011	7,612,545	105,482
2012	7,442,929	220,529
2013	6,977,551	175,765
2014	6,707,921	354,119
Total	129,639,474	1,190,680



Pan American
Health
Organization



World Health
Organization

REGIONAL OFFICE FOR THE
Americas

Pruebas de Diagnostico Rápido (PDR)

Ampliación del diagnostico para malaria en lugares donde la microscopia no este disponible

Como seleccionar la mas adecuada?

Desempeño de las Pruebas de Diagnóstico Rápido (PDR) de la Malaria.



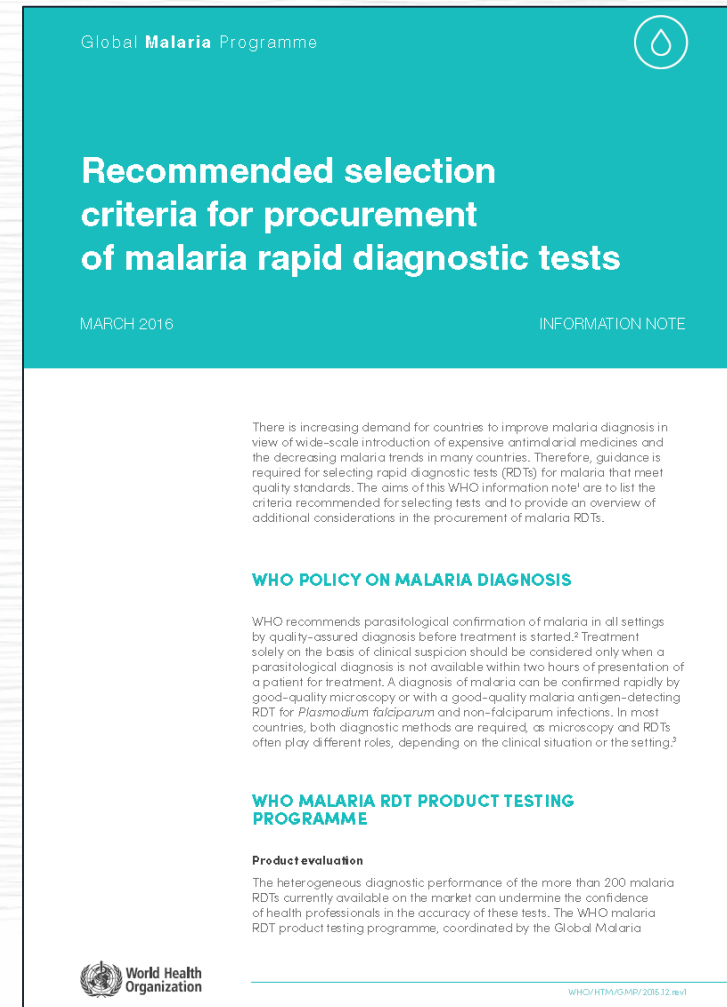
Resultados de las evaluaciones realizadas por OMS (2008-2015)



http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/204118/1/9789241510035_eng.pdf?ua=1

Resultados

- Datos comparables de los dos lotes del producto (200 parásitos/ μ l) y altas (2000 – 5000 parásitos/ μ l) parasitemias.
- Programa continuo que ha permitido ver una mejoría en el desempeño de las PDR evaluadas.
- Mejor nivel de detección con parasitemias elevadas (2000-5000 parásitos/ μ l)
- PDR basadas en detección del antígeno HRP2 con altas tasas de detección



A tener en cuenta antes de la selección de una PDR

SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD

- Especies circulantes
- Antígeno target (aldolasa, pLDH, HRP2)
- Parasitemias bajas (vivax)
- Clima (temperatura y humedad)
- Presentación (fácil manejo)

Amazonia no debería utilizar pruebas basadas en detección del antígeno HRP2, para evitar falsos negativos*

*Gamboa et al. PLoS One. 2010 Jan 25;5(1):e8091.HRP2 surveillance report, CDC, otros....

Desafíos y próximos pasos



Como realizar la vigilancia de este problema:

- A través del uso de las mismas PDR
 - Concordancia de resultados (PDR HRP2 - y lámina/PCR +) laboratorios centinelas/referencia
 - Brasil, Colombia, Bolivia, Ecuador(utilizando PDR 3 líneas *P. falciparum* pLDH y HRP2)
- A través de la recolección de muestras positivas de *P. falciparum* en papel filtro
 - Centroamérica, República Dominicana y Haití

IMPORTANTE A RECORDAR

Debido a las especificidades mencionadas, los países deberían contar con acciones específicas a la hora de implementar las PDR para:

- **Evaluar concordancia de las PDR a través de la microscopia;**
 - Sitios centinelas
 - Según situación epidemiológica (PDR + y/o -)
- **Analizar los datos para guiar las intervenciones basadas en evidencias.**

Discordancia entre PDR y microscopia por densidad						
% de Total	Densidad	Microscopia Total	PDR		# Total	Discordancias
			Positiva	Negativa		
0%	5. (> 2,000 / 100c)	0	0	0	0	
10%	4. (200 - 2,000 / 100c)	20	15	1	16	6%
10%	3. (61 - 199 / 100c)	21	17	3	20	15%
2%	2. (40 - 60 / 100c)	4	3	1	4	25%
40%	1. <40 / 100c)	83	65	11	76	14%
38%	...Sin Datos	80	68	7	75	9%
Total		208	168	23	191	12%

Discordancia entre PDR y microscopia por densidad						
% de Total	Densidad	Microscopia Total	PDR		# Total	Discordancias
			Positiva	Negativa		
0%	5. (> 2,000 / 100c)	0	0	0	0	
4%	4. (200 - 2,000 / 100c)	7	6	0	6	0%
11%	3. (61 - 199 / 100c)	18	17	0	17	0%
15%	2. (40 - 60 / 100c)	26	26	0	26	0%
59%	1. <40 / 100c)	100	82	16	98	16%
11%	...Sin Datos	18	14	3	17	18%
Total		169	145	19	164	12%

WHO Technical consultation: recommendations on Highly sensitive point of care diagnostic tests for falciparum malaria



Relevant WHO recommendations - 2017

- In May 2017, WHO convened an Evidence Review Group (ERG) on low-density malaria infections to review recommendations on the use of malaria diagnostics in low transmission settings, based on the most recent data on the natural history, prevalence and contribution to transmission of low-density *P. falciparum* and *P. vivax* infections.
- The conclusions, endorsed by the Malaria Policy Advisory Committee (MPAC) in October 2017, recommended quality-assured **conventional RDTs and microscopy for the confirmation and management of malaria cases and malaria surveillance**, including routine health information systems and household surveys, in all epidemiological situations. MPAC also recommended that **highly sensitive techniques capable of detecting low-density infections (below 100 parasites/ μ l) be used only for research purposes** until there is sufficient evidence that using these tools to detect low-density infections will have a significant impact on transmission.
- The 2017 ERG recommended **additional research to understand the contribution to transmission of low-density infections and to define the public health impact of strategies incorporating highly sensitive diagnostic tests in different epidemiological settings.**

Follow up.....

Objectives of the Technical Consultation in 2018



1. To define the key **research questions needed to conclude that strategies incorporating highly sensitive point-of-care diagnostics for falciparum malaria will:**
 - a) have a significant **impact on malaria transmission in areas working towards elimination** when used in passive case detection, reactive case detection, proactive case detection, mass testing and treatment;
 - b) **prevent re-establishment of malaria transmission**; and
 - c) **prevent adverse effects of malaria in pregnancy**.
2. For each of the identified research questions, define most **appropriate transmission setting**, accounting for seasonal variation and recent history of transmission, **study methodology** to acquire direct or indirect supportive evidence, including study outcomes, comparators, co-variates and sample size requirements.
3. To **review the current landscape of research** on the use of highly sensitive malaria diagnostic tests, including recently completed and ongoing studies.
4. To **develop a realistic timeline**, based on the findings of ongoing, planned and newly identified study requirements, for generating the evidence on the impact of using highly sensitive malaria diagnostics in a range of transmission settings and use scenarios.

Global Malaria Programme



WHO Technical Consultation on research requirements to support recommendations on highly sensitive point of care diagnostic tests for falciparum malaria



4 - 6 June 2018

Room D46025, WHO/UNAIDS Building D, Geneva, Switzerland

Global **Malaria** Programme



Meeting recommendations will be presented to MPAC in 2019





METODOLOGIAS DE AMPLIFICACION DEL ACIDO NUCLEICO - NAAT

Para confirmación diagnóstica (potencial uso fase de eliminación) o diferenciar entre relapso o recrudescencia



Pan American
Health
Organization



World Health
Organization

REGIONAL OFFICE FOR THE Americas

Recomendaciones de la OMS (I)



- Un número de técnicas que amplifican el ácido nucleico están disponibles en el mercado y tienen mayor sensibilidad en la detección de malaria en comparación con las PDR y la microscopía. Generalmente, el uso de estas herramientas de mayor sensibilidad **deben ser consideradas solamente en situaciones de baja transmisión donde ya existen las capacidades ampliamente implementadas para diagnosticar y tratar los casos de malaria y las tasas de prevalencia son bajas (ej. < 10%)**. El uso de estas metodologías (NAAT) no deben desviar los recursos para las intervenciones de prevención y control y el fortalecimiento de los servicios de salud, incluyendo el Sistema de información.

Recomendaciones de la OMS (II)



- Infecciones sub-microscópicas tanto de *Plasmodium falciparum* como de *vivax* son comunes tanto en lugares de alta como baja transmisión. El uso de estas metodologías (NAA) debe ser considerado para **investigación epidemiológica y estudios** con objetivos de mapear las infecciones sub-microscópicas en situaciones de intensidad baja de transmisión. Pueden también ser utilizadas para la **identificación de focos** para medidas de intervención especiales en situaciones de eliminación.

NAA métodos – detección niveles bajos de parasitemia

Diagnostic technique	Operational characteristics	Performance ¹	Cost ²	References
Nested PCR	Uses two sets of primers in successive reactions, therefore increased cost, time and potential for contamination compared to single step PCR.	Limit of detection of at least 6 p/μl for blood spots. Higher sensitivity than single step PCR for four major <i>Plasmodium</i> species. Hands-on time 3 hours to result, total time 10 hours.	\$1.5-4.0 per sample, \$500-5000 for equipment	[24]
Multiplexed PCR	Simultaneous, multiplex PCR to detect the presence of multiple <i>Plasmodium</i> species.	Limit of detection 0.2-5 p/μl. 2 hours hands-on time to result, total time 4.5 hours.	\$1.5-4.0 per sample (but lower than nested), \$500-5000 for equipment	[25-28]
Quantitative PCR	Rapid amplification, simultaneous detection and quantification of target DNA through use of specific <u>fluorophore probes</u> .	Limit of detection 0.02 p/μl for genus level identification, 1.22 p/μl for <i>P. falciparum</i> detection. 60 minutes hands-on time to result, total time 2.5 hours.	\$4-5 per sample, >\$20,000 for equipment	[29-32]
LAMP	Boil and spin extraction can be used, amplification by isothermal method. Result determined by turbidity or fluorescence. Sensitivity can be increased by including mitochondrial targets. Genus level targets, <i>P. falciparum</i> and <i>P. vivax</i> . Field-appropriate.	Limit of detection 0.2-2 p/μl. Results can be available in 30 minutes with a tube scanner.	\$4-5 per sample (commercial), \$500-5000 for equipment	[33-37]
QT-NASBA	Assay includes a reverse transcriptase step, less inhibition than PCR. Isothermal method. Can be used for gametocyte quantification. Detects all four <i>Plasmodium</i> species, targeting 18S <u>rRNA</u> . Result by fluorescence.	Limit of detection 0.01-0.1 p/μl per 50μl sample. 90 minutes for result (not including extraction time of an additional ~90 minutes)	\$5-20 per sample. ? equipment costs	[38-40]

¹ Diagnostic performance influenced by factors including sample preparation, NA extraction efficiency, and amount of blood, amount of template included in reaction, copy number of target sequence, and specific buffers, enzymes etc. used.

² Cost estimates reported by Erdman LK, Kain KC: **Molecular diagnostic and surveillance tools for global malaria control.** *Travel Med Infect Dis* 2008, **6**:82-99. Cordray MS, Richards-Kortum RR: **Emerging nucleic acid-based tests for point-of-care detection of malaria.** *Am J Trop Med Hyg* 2012, **87**:223-230.

Política de OMS para el diagnóstico de malaria en situaciones de baja transmisión



**Documento completo
en el siguiente link:**

<http://www.who.int/entity/malaria/publications/atoz/malaria-diagnosis-low-transmission-settings-sep2014.pdf?ua=1>



Ejemplo de vigilancia en Centro América para guiar el uso de PDR HND/Lab. Supranacional



Pan American
Health
Organization



World Health
Organization

REGIONAL OFFICE FOR THE
Americas