



FORUM MESA

Mises à jour des recommandations de l'OMS sur la surveillance des délétions des gènes *pfhrp2/3* et des enquêtes récemment achevées

 Date	 Heure	 Type
3 avril	14h CET	Virtuel



Community of Practice
pfhrp2/3 gene deletions
Mobilizing and providing peer and technical support

<u>Panélistes:</u> Jane Cunningham OMS/GMP	Regina Kandie PNLP-MoH, Kenya	Matthew Coldiron MSF, Sud-Soudan
---	----------------------------------	-------------------------------------

— Réponses aux questions en suspens —

Planification et mise en oeuvre de l'enquête

1. Est-il possible de prélever des échantillons chez des personnes asymptomatiques ?

La collecte d'échantillons auprès de personnes asymptomatiques n'est pas incluse dans les modèles de protocole d'enquête de l'OMS, car l'objectif principal est d'évaluer l'impact des délétions des gènes *pfhrp2/3* sur le paludisme clinique.

Si des ressources sont disponibles, les personnes asymptomatiques infectées par *Plasmodium falciparum* peuvent être dépistées pour détecter des délétions des gènes *pfhrp2/3*. Des exemples ont montré des délétions du gène *pfhrp2* chez des individus asymptomatiques, sans que des études de suivi chez des cas symptomatiques se présentant dans des établissements de santé ne révèlent de telles délétions. Une explication possible pourrait être une virulence ou une aptitude réduite associée aux délétions des gènes *pfhrp2/3*.

2. Le protocole que nous avons utilisé au Kenya impliquait beaucoup de documents imprimés (par ex. plusieurs questionnaires). Serait-il possible d'intégrer des outils alternatifs comme ODK ?

Oui, si les PNLP (Programmes Nationaux de Lutte contre le Paludisme) et/ou les groupes de recherche disposent de tablettes ou de smartphones en quantité suffisante, une version électronique sur une plateforme open-source pourrait être développée.

3. Les recommandations dans les documents d'orientation sont-elles également applicables à l'Amérique latine ?

Oui, elles restent applicables. Cependant, plusieurs pays d'Amérique latine ont décidé, sur la base d'enquêtes menées il y a plusieurs années, de continuer à s'appuyer sur la microscopie, et de réserver les tests de diagnostic rapide (TDR) – généralement combinant HRP2, *pfLDH* et *P. vivax* – aux zones reculées où la microscopie n'est pas réalisable. Les pays de cette région devraient envisager une transition vers des TDR améliorés avec une détection optimisée du *pfLDH*, seuls ou en combinaison avec le HRP2.

Analyses moléculaires

4. Que se passe-t-il pour les pays ne disposant pas de laboratoires de référence moléculaires accrédités ?

L'OMS peut vous mettre en relation avec un laboratoire de référence international ayant l'expérience de ce type d'analyses. Vous pouvez contacter Jane Cunningham à l'adresse suivante : cunninghamj@who.int

5. **En cas d'infection mixte avec deux souches de *P. falciparum*, l'une présentant une délétion et l'autre non, ne risque-t-on pas de manquer les cas de délétion si les analyses moléculaires ne sont réalisées que lorsque le test pLDH est positif et le test HRP2 négatif ?**

C'est exact. Les infections mixtes ne produiront pas de résultats faussement négatifs, MAIS elles pourraient être détectées en analysant un sous-échantillon de cas HRP2-positifs et TDR-négatifs au moyen de la PCR en temps réel ou de la PCR digitale.

Il faut garder à l'esprit que le protocole d'enquête est centré sur l'impact clinique des délétions des gènes *pfhrp2/3* et non sur leur prévalence globale – laquelle nécessiterait d'inclure les cas symptomatiques et asymptomatiques.

6. **Quelle pourrait être la valeur ajoutée du séquençage par amplicons (AmpSeq) pour la détection des délétions des gènes *pfhrp2/3* ?**

Le séquençage par amplicons permet de détecter des clones minoritaires dans des infections polyclonales portant des délétions *pfhrp2/3* (tout comme la qPCR et la PCR digitale en gouttelettes). AmpSeq fournit une résolution au niveau des haplotypes, utile pour suivre l'émergence et la propagation des souches porteuses de délétions. Il permet de différencier les événements de délétion indépendants d'une expansion clonale d'une souche unique.

De plus, les panels AmpSeq peuvent inclure d'autres marqueurs de résistance (par ex. *pf crt*, *pfmdr1*, *K13*, etc.), permettant ainsi un génotypage simultané et intégré, s'il existe une justification pertinente. Il peut également confirmer les résultats PCR – en particulier les faux positifs liés à des échecs de PCR.

Un autre avantage réside dans la possibilité de réanalyser les jeux de données AmpSeq ultérieurement à mesure que de nouvelles informations deviennent disponibles. Cependant, malgré ces avantages, il est essentiel de prendre en compte le coût plus élevé et la complexité technique par rapport à la PCR seule, car cela nécessite des capacités en bioinformatique et des pipelines de données robustes.

Plasmodium spp.

7. **Si la microscopie révèle qu'un participant est infecté par plusieurs espèces de *Plasmodium*, l'échantillon peut-il être utilisé pour le génotypage des gènes *pfhrp2/3* ? Ou seulement dans le cas d'infections mono-spécifiques ?**

Oui, les échantillons avec infections mixtes peuvent être utilisés. Dans les méthodes de génotypage ciblant spécifiquement *P. falciparum* (par exemple, amores PCR spécifiques à l'espèce ou panels AmpSeq), l'ADN non-*falciparum* n'interfère pas, à condition que les amores présentent une bonne spécificité.

8. **Question un peu en marge du sujet HRP2/3 : dans les deux enquêtes, certains TDR HRP2 négatifs étaient dus à des infections non-*falciparum*. On sait que cela arrive aussi en routine (quand les résultats négatifs HRP2 sont vérifiés par microscopie, si cela est faisable), et cela nuit à la confiance dans les TDR, même si la fréquence est très faible. L'OMS a-t-elle une recommandation sur un seuil de prévalence des infections non-*falciparum* pour envisager l'usage d'un TDR combiné (HRP2/pan-pLDH) ou d'un TDR sans HRP2 ?**

Non, l'OMS n'a pas de recommandations spécifiques à ce sujet. La pertinence dépend fortement de l'épidémiologie locale – par exemple, si la majorité des infections à *P. malariae* sont mixtes avec *P. falciparum*, le bénéfice d'un TDR combiné peut être marginal. La performance des lignes pan pour détecter ces infections est également susceptible de varier. Une revue de la littérature sur la performance des TDR pour la détection de *P. malariae* et *P. ovale* est prévue prochainement, afin de mieux orienter les recommandations dans ce domaine.

Résistance aux antipaludiques et études TES

9. En dehors des problèmes diagnostiques, ces délétions *HRP2/3* ont-elles également un effet sur la réponse au traitement médicamenteux ou sur l'émergence de la résistance à l'artémisinine ?

Non, les gènes/protéines *pfhrp2/3* ne sont pas impliqués dans le métabolisme des médicaments ni ne constituent des cibles thérapeutiques, donc l'efficacité du traitement n'est pas affectée par leur absence.

Des études récentes, notamment en Érythrée, ont toutefois montré une prévalence plus élevée de mutations *K13* chez les parasites porteurs de délétions *pfhrp2/3*, soulevant des questions importantes quant à d'éventuels liens entre l'évasion diagnostique et la résistance aux antipaludiques. Ces phénomènes pourraient se produire indépendamment ou résulter de lignées uniques acquérant plusieurs avantages sélectifs et s'étendant de manière clonale. Cela pourrait indiquer que les souches déletées *pfhrp2/3* persistent plus longtemps grâce à l'évasion diagnostique, ce qui leur laisse davantage de temps pour accumuler et propager des mutations de résistance. Il s'agit d'un domaine d'étude en cours.

10. Dans la situation actuelle de restrictions de financement dans certains pays, est-il possible d'utiliser des échantillons issus d'autres études, telles que les Études d'Efficacité Thérapeutique (TES), pour la surveillance des délétions *HRP2/3* ?

Oui, c'est possible si l'approbation éthique et le consentement des patients sont compatibles avec ces analyses supplémentaires. Une attention particulière doit être portée aux conclusions tirées, car l'étude initiale pourrait ne pas être suffisamment dimensionnée ou représentative pour guider la prise de décision en matière de TDR.

11. Quand peut-on s'attendre à la mise à jour du protocole TES incluant la détection simultanée des délétions *pfhrp2/3* ?

Elle sera finalisée d'ici la fin de l'année.

Changement de TDR et prise de décision nationale

12. Que doivent faire les pays avec les TDR encore en circulation mais qui ne sont plus préqualifiés par l'OMS ?

Nous suggérons de passer aux TDR préqualifiés, mais vous pouvez utiliser les stocks déjà en place.

13. Dans un scénario où seul un petit nombre de sites dépasse le seuil, tandis que la majorité reste en dessous dans 18 États, comment ces données peuvent-elles efficacement orienter les politiques ? Étant donné les difficultés à mettre en œuvre de nouvelles politiques, quels types d'ajustements seraient les plus appropriés ? Quelles stratégies peuvent être utilisées pour gérer la période de transition jusqu'à la pleine mise en œuvre de la nouvelle politique ?

Les recommandations de l'OMS préconisent un changement des TDR à l'échelle NATIONALE dès qu'un ou plusieurs domaines/régions dépassent le seuil de 5 %, car on anticipe une propagation des délétions. Disposer de données issues de plusieurs régions permet de hiérarchiser le déploiement des nouveaux TDR. Le délai réaliste pour changer de TDR dépend fortement de la taille du pays et des stocks existants.

14. Quel est le coût des nouveaux TDR combinés par rapport aux TDR conventionnels actuels ?

Il n'y a pas de prix fixe, mais selon l'expérience de pays ayant dû changer de TDR (Érythrée, Djibouti), le coût est nettement plus élevé. On espère qu'avec des volumes importants, le prix ne sera que de 10 à 15 centimes USD de plus par test.

15. Quel est le devenir des populations parasitaires déletées ? Sont-elles en augmentation ou en diminution après le changement de TDR ?

Nous ne disposons pas encore de données issues d'enquêtes répétées dans de nombreux endroits. En Érythrée, bien qu'il n'y ait pas eu de comparaison directe, la prévalence globale des délétions semble avoir diminué. En revanche, au Pérou, où la pression des TDR n'a pas joué un rôle important, la prévalence des délétions a augmenté au fil du temps. Davantage de données sont attendues dans les deux prochaines années.

16. Question concernant l'avenir des TDR : si les TDR détectant uniquement HRP2 ne sont plus recommandés pour la prise en charge diagnostique des cas à l'échelle mondiale, allons-nous dépendre uniquement de la détection de LDH ou existe-t-il une autre alternative ?

Il est probable que les TDR combinés HRP2 et *pf*LDH remplaceront les TDR HRP2 seuls. Les cibles HRP2 et *pf*LDH peuvent être sur la même ligne ou sur des lignes séparées. Et ce, parce que, malgré les améliorations significatives des performances des lignes *pf*LDH, les performances globales sont meilleures avec des cibles antigéniques combinées [ref].

Ressources de soutien

17. Pouvez-vous partager le lien vers l'application *pfhrp2/3 Planner* ?

L'application *pfhrp2/3 Planner* est disponible [ici](#).

18. Existe-t-il des formations ou conférences pertinentes pour approfondir ce sujet ?

Il n'y a actuellement aucun atelier de formation prévu en raison de contraintes de ressources. Toutefois, un appui technique est disponible via les contacts avec le Programme mondial de lutte contre le paludisme (WHO GMP) et le réseau de points focaux des laboratoires de référence.