



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Detection of schistosome circulating antigens CCA and CAA: diagnostic test interpretation and application

Casacuberta Partal, M.

Citation

Casacuberta Partal, M. (2024, April 10). *Detection of schistosome circulating antigens CCA and CAA: diagnostic test interpretation and application*.

Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/3732023>

Version: Publisher's Version

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/3732023>

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

NEDERLANDSE SAMENVATTING

Schistosomiasis is een parasitaire infectie die veroorzaakt wordt door platwormen (trematoden) van het geslacht *Schistosoma*. Het is een verwaarloosde tropische ziekte die vooral bevolkingsgroepen treft die in armoede leven zonder goede sanitaire voorzieningen. De behandeling van alle vormen van schistosomiasis berust voornamelijk op één geneesmiddel, praziquantel (PZQ), vanwege zijn hoge werkzaamheid en uitstekende veiligheidsprofiel. PZQ is echter niet effectief tegen jonge wormen, waardoor de infectie na behandeling kan voortbestaan. Bovendien is de geschatte werkzaamheid van PZQ afhankelijk van het gebruikte diagnostische instrument.

De routekaart m.b.t. schistosomiasis van het WHO voor 2021-2030 vraagt om de ontwikkeling van zeer gevoelige en specifieke diagnostische methoden die in het veld kunnen worden ingezet om de situatie voor en na een interventie te evalueren. Een diagnose speelt een belangrijke rol wat betreft de besluitvorming over zowel de behandeling van individuele gevallen als de inzet van controleprogramma's zoals het massaal toedienen van medicijnen (MDA) in endemische gebieden. Het gebrek aan robuuste diagnostische hulpmiddelen belemmert het in kaart brengen van de ziektelast die schistosomiasis veroorzaakt, terwijl dat cruciaal is om infecties te identificeren en verdere verspreiding te voorkomen.

Doordat de parasiet zich intravasculair bevindt, kunnen de wormen niet direct gekwantificeerd worden in het menselijk lichaam. Daarom is de diagnose van *Schistosoma mansoni* (*S. mansoni*) infecties traditioneel gebaseerd op het bepalen van de aanwezigheid van eieren van de parasiet in de ontlasting met behulp van microscopie. Deze methode is echter niet erg gevoelig, vooral niet voor het detecteren van infecties met een lage intensiteit, zoals bijvoorbeeld het geval is na een behandeling. Hierdoor worden er onterecht mensen genezen verklaard en wordt de prevalentie onderschat. Daarom hebben andere detectiemethoden, zoals antigeen-detectie (*circulating cathodic antigen* (CCA) en *circulating anodic antigen* (CAA)) en serologische tests meer aandacht gekregen.

Hoewel de detectie van de antigenen CCA en CAA bewezen potentie heeft voor diagnostische doeleinden, zijn er nog steeds verschillende onbeantwoorde vragen. Het is bijvoorbeeld onbekend of de geslachtsrijpheid van schistosomen beïnvloedt hoeveel antigeen er geproduceerd wordt en of mannelijke en vrouwelijke wormen vergelijkbare regurgitatiepatronen en antigeenproductie hebben.

Dit proefschrift heeft als doel om te verhelderen hoe het CCA en CAA dat geproduceerd wordt door schistosomen geïnterpreteerd moet worden. In het begin van deze dissertatie

hebben we het belang aangetoond van standaardisatie bij het aflezen van de POC-CCA test scores (Hoofdstuk 2). In hoofdstuk 3 hebben we de specificiteit van de POC-CCA beoordeeld op basis van het testen van urinemonsters uit een niet-endemische context. In hoofdstuk 4 en 5 onderzochten we de bruikbaarheid van methoden die gebaseerd zijn op circulerende antigenen geproduceerd door schistosomen met proefmonsters van reizigers en individuen uit endemische gebieden. Tot slot hebben we in hoofdstuk 6 inzicht gegeven in de correlatie tussen de intensiteit van de infectie in een knaagdiermodel en de hoeveelheid antigeen die aanwezig was *in vivo* en in wormkweken. Meer kennis van CCA en CAA kan helpen om de toepassing van huidige en toekomstige diagnostische methoden die gebaseerd zijn op de detectie van CCA en CAA te verbeteren.

Studies die worden beschreven in dit proefschrift:

In **hoofdstuk 2** ontwikkelden en evalueerden we het gebruik van G-scores, een innovatieve benadering voor de semi-kwantitatieve interpretatie van de POC-CCA cassettes. Dit had als doel het standaardiseren en ondersteunen van de gebruikelijke kwalitatieve POC-CCA scores. De G-scores zijn een reeks cassettes die geprinte lijnen bevatten van verschillende intensiteit om de POC-CCA testlijn te kunnen beoordelen op een schaal van 1 tot 10. We evalueerden urine uit een gebied waar *S. mansoni* endemisch is en vergeleken de lijnen van de POC-CCA cassettes met de G-scores. De G-scores en het aantal eieren per gram feces waren significant positief gecorreleerd. Deze proof-of-concept studie toont het nut aan van de G-scores voor het standaardiseren van de visuele score van de POC-CCA cassette. De resultaten suggereren ook dat G-scores kunnen helpen bij het omgaan met zaken als batch-to-batch verschillen en interpretatie van sporen.

Recente waarnemingen hebben geleid tot bezorgdheid over een mogelijk verminderde specificiteit van de POC-CCA, in het bijzonder bij zwangere vrouwen en kinderen onder de leerplichtige leeftijd. Er zijn echter beperkte gegevens over de prestaties van de POC-CCA-urinetest bij deze groepen, omdat ze vaak worden uitgesloten in controleprogramma's zoals MDA. In **hoofdstuk 3** hebben we de prestaties van de POC-CCA urinetest beoordeeld in een niet-endemische populatie: zwangere vrouwen en kinderen jonger dan 4 jaar die in Nederland woonden, zonder bekende blootstelling aan een *Schistosoma* infectie. De hoogste scores werden gevonden bij de jongste baby's, met een baby van 9 maanden als het oudste positieve geval. Bij het meten van de pH van de urinemonsters bleek dat alle monsters met een sterk positieve POC-CCA uitslag zuur waren (pH: 5-5,5), terwijl het toevoegen van pH-neutrale buffer aan een deel van het monster de fout-positieve uitslagen omkeerde. Deze bevindingen suggereren dat de POC-CCA test een verminderde specificiteit heeft bij PW en baby's jonger dan 9 maanden, maar dat vals-positieve uitslagen voorkomen zouden kunnen worden door de buffers die in de test gebruikt worden aan te passen.

In **hoofdstuk 4** bepaalden we de effectiviteit van een eenmalige versus herhaalde (4 keer) behandeling(en) met PZQ tegen *S. mansoni* infecties bij schoolgaande kinderen uit Ivoorkust, met behulp van twee verschillende diagnostische tests (POC-CCA urinetest en microscopische analyse van ontlasting). De resultaten toonden een significante afname van eieren (ontlasting, microscopie) en CCA (urine, POC-CCA) na één behandeling, maar een snelle heropleving als er geen extra behandeling werd gegeven. Zelfs na 4 herhaalde behandelingen testten veel deelnemers negatief op basis van microscopie, maar nog steeds positief bij gebruik van POC-CCA. De resultaten lieten verschillen zien tussen POC-CCA en microscopie die samenhangen met de verschillende levensstadia van de parasiet. Dit geeft ook aan dat CCA-producerende wormen nog steeds aanwezig kunnen zijn na meerdere behandelingsrondes en dat PZQ dus mogelijk aanzienlijk minder effectief is dan wordt geconcludeerd op basis van microscopische resultaten. De gegevens beschreven in dit hoofdstuk benadrukken het belang van verder onderzoek naar de effectiviteit van PZQ in combinatie met nauwkeurige en gevoelige antigeendiagnostiek.

In **hoofdstuk 5** vergeleken we de toegevoegde waarde van het detecteren van urine en serum CAA in vergelijking met serum antilichaam en PCR testen. We hebben dit gedaan door middel van een prospectieve studie gebaseerd op Nederlandse reizigers die recent in endemische gebieden zijn geweest. Onze bevindingen toonden aan dat slechts een klein deel van de reizigers die blootgesteld waren aan *Schistosoma* tijdens het reizen een actieve infectie had opgelopen die gediagnosticeerd kon worden met de UCP-LF CAA-test. Na behandeling met PZQ daalden na 6 weken de serum CAA-spiegels bij deze paar personen tot niet te detecteren niveaus en na 6 maanden waren ze nog steeds negatief. Deze bevindingen bevestigden dat CAA-detectie een actieve *Schistosoma*-infectie aantoont en dat PZQ effect heeft op lichte infecties.

Terwijl veldstudies in endemische gebieden inzichten verschaffen op basis van natuurlijke infecties, maken diermodellen het mogelijk om vragen te beantwoorden over het meten van CCA en CAA voor diagnostische doeleinden die bij mensen onbeantwoord zouden blijven. **Hoofdstuk 6** beschrijft de uitscheidingspatronen van CAA en CCA in een muismodel na blootstelling aan 36 *S. mansoni* cercariae; alleen mannetjes, alleen vrouwtjes en gemengd (mannetjes/vrouwtjes). Urine- en serummonsters van alle muizen werden verzameld voor antigeen metingen bij de start, en 3, 6, 9 en 12 weken na infectie. We ontdekten dat alleen mannelijke *Sm* wormen meer CAA (*in vivo* en *ex vivo*) en meer CCA (*ex vivo*) uitscheiden dan alleen vrouwelijke *Sm* wormen. Bij het meten van *ex vivo* wormkweken vonden we over het algemeen dat er meer CAA dan CCA geproduceerd werd per worm in zowel de groepen met alleen mannetjes of vrouwtjes als in de conditie met gemengde wormen. Onze studie bevestigt dat CAA-niveaus het aantal wormen weerspiegelt en gebruikt kan worden om lage infectielevels met één geslacht

te detecteren. Deze resultaten suggereren dat kennis van de uitscheidingspatronen van CCA of CAA van *Schistosoma* soorten nuttig is om de contextgebonden beperkingen van diagnostische tests in te kunnen schatten en de besluitvorming met betrekking tot interventies gericht op de volksgezondheid op basis van antigeentestresultaten te vergemakkelijken.

Conclusie

Samen hebben de studies in dit proefschrift de interpretatie van diagnostische tests op basis van circulerend *Schistosoma* antigeen in endemische en niet-endemische regio's behandeld, ondersteund door gegevens verkregen uit een dierstudie. De diagnostische waarde van verschillende tests is verschillend en contextafhankelijk. We hebben aangetoond dat de uitscheiding van antigeen kan verschillen tussen mannelijke en vrouwelijke schistosomen. Tot slot benadrukt dit proefschrift het belang van een beter begrip van uitscheidingspatronen door verschillende soorten om de op antigeen gebaseerde diagnostiek van schistosomiasis te optimaliseren.