



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).

RESUM EN CATALÀ

L'esquistosomiasi és una infecció parasitària causada per cucs plans (trematodes) del gènere *Schistosoma*. És una malaltia tropical desatesa, que afecta principalment a poblacions que viuen en la pobresa sense un sistema de sanejament adequat. El tractament de totes les formes d'esquistosomiasi es basa principalment en un fàrmac, el praziquantel (PZQ), a causa de la seva alta eficàcia i excel·lent perfil de seguretat. Tanmateix, el PZQ és ineficaç contra els cucs juvenils els quals poden contribuir a la persistència de la infecció després del tractament. A més a més, l'eficàcia estimada de PZQ depèn de l'eina de diagnòstic utilitzada.

El full de ruta 2030 de l'OMS per a l'esquistosomiasi demana el desenvolupament de diagnòstics de camp que siguin altament sensibles i específics per avaluar l'abans i el després d'una intervenció mèdica. El diagnòstic té un paper clau en la presa de decisions sobre el tractament de casos individuals i també per guiar programes de control com l'aplicació de l'administració massiva de fàrmacs (de l'anglès, MDA) en entorns endèmics. Tanmateix, la manca d'eines de diagnòstic sòlides perjudica l'avaluació i el seguiment de la càrrega de les infeccions per esquistosoma, que són crucials per identificar les infeccions i interrompre la transmissió.

A causa de la localització intravascular del paràsit, els cucs no es poden quantificar directament en humans infectats, per tant, el diagnòstic de les infeccions per *Schistosoma mansoni* (*S. mansoni*) es basa tradicionalment en la microscòpia i la determinació de la presència d'ous d'esquistosoma a la femta. No obstant això, la microscòpia d'ous manca sensibilitat, especialment per detectar infeccions de baixa intensitat, com ara en entorns posteriors al tractament mèdic. Per tant, la manca de detecció d'ous no indica necessàriament curació i per tant subestima la prevalença de la malaltia. És per això que altres mètodes de detecció del paràsit han guanyat més atenció, com ara l'antigen catòdic circulant (CCA) derivat de cucs a l'orina o l'antigen anòdic circulant (CAA) a l'orina i el sèrum, així com les proves serològiques.

Tot i que la detecció dels antígens circulants de l'esquistosoma CCA i CAA han demostrat el seu potencial diagnòstic, encara queden altres preguntes per resoldre. Per exemple, es desconeix si la maduresa reproductiva dels esquistosomes afecta a la quantitat d'antigen produït; o si els cucs masculins i femenins tenen patrons de regurgitació i producció d'antigen comparables.

Aquesta tesi pretén explorar i posar llum a la foscor sobre com interpretar el CCA i el CAA de l'esquistosoma. A l'inici d'aquesta tesi, hem demostrat la importància de

l'estandardització a l'hora de llegir les puntuacions de les proves POC-CCA (Capítol 2). Al capítol 3, s'ha avaluat l'especificitat del POC-CCA a l'analitzar mostres d'orina no endèmiques. Als capítols 4 i 5, hem explorat mètodes de diagnòstic basats en test d'antígens circulants d'esquistosomes tant en entorns endèmics com en viatgers. Amb aquesta finalitat, el capítol 6 ens ha proporcionat informació sobre la correlació entre la intensitat de la infecció basada en un model de rosegadors i la quantificació d'antígens tant *in vivo* com de cultius de cucs. Un coneixement més profund de CCA i CAA en diferents contextos podria millorar l'aplicació dels mètodes de diagnòstic actuals i futurs.

Estudis descrits en aquesta tesi

Al **Capítol 2**, vam desenvolupar i avaluar un enfocament innovador per a la interpretació semi quantitativa dels cassets POC-CCA, anomenat G-scores (de l'anglès, puntuació G) amb l'objectiu d'estandarditzar i donar suport a la interpretació visual del test POC-CCA. Els G-scores són una sèrie de cassets artificials que contenen tires impreses amb injecció de tinta de diferents intensitats per tal de qualificar la línia o banda acolorida del POC-CCA en una escala de l'1 al 10. Es van avaluar les orines d'una zona endèmica de *S. mansoni* i les línies dels testos POC-CCA es van comparar visualment amb els G-scores. Es va observar una correlació positiva significativa entre els G-scores i els ous per gram de femta. Aquest estudi de 'prova de concepte' demostra la utilitat dels G-scores per estandarditzar la interpretació visual del test de d'orina POC-CCA. L'estudi també suggereix que pot ser útil més assistència per tractar problemes com les diferències entre lots de fabricació i la interpretació de bandes dubtoses.

Observacions recents han plantejat preocupacions sobre la possible reducció de l'especificitat del test POC-CCA, en particular en dones embarassades (de l'anglès, PW) i nens en edat preescolar (de l'anglès, PSAC). Tanmateix, hi ha dades limitades sobre el rendiment i funcionament de la prova d'orina POC-CCA en aquests grups perquè sovint s'han exclòs en programes de control basats en MDA. Al **Capítol 3**, vam avaluar el funcionament de la prova d'orina POC-CCA en una població no endèmica, PW i nens menors de 4 anys que residien als Països Baixos, sense cap exposició coneguda a una infecció per *Schistosoma*. Les puntuacions més altes de positivitat es van trobar en els nadons més petits, sent un nadó de 9 mesos el cas positiu amb més edat. En mesurar el pH, semblava que totes les orines POC-CCA fortament positives eren àcides (rang de pH 5-5, 5), mentre que l'addició de tampó de pH neutre a una submostra va revertir la falsa positivitat. Aquests resultats suggereixen que el test POC-CCA té l'especificitat reduïda en PW i nadons menors de 9 mesos, però que la falsa positivitat es podria eliminar mitjançant modificacions en els tampons utilitzats al test.

Al **Capítol 4**, vam determinar l'eficàcia d'un tractament únic *versus* quatre de repetits amb PZQ per infecció del paràsit *S. mansoni* en nens en edat escolar de Costa d'Ivori, mitjançant dues proves diagnòstiques diferents (test d'orina POC-CCA i microscòpia de femta). Els resultats van mostrar una disminució significativa dels ous (femta, microscòpia) i CCA (orina, POC-CCA) després d'un sol tractament, però de seguida amb un ressorgiment ràpid si no es donava cap tractament addicional. Fins i tot després de 4 tractaments repetits, molts participants van tenir resultats negatius per microscòpia, però encara van ser positius per POC-CCA. Els resultats van revelar discrepàncies entre els testos POC-CCA i microscòpia, reflectint les diferents etapes de vida del paràsit. Això també indica que els cucs que són productors de CCA, encara estan presents després de diverses rondes de medicació i que el PZQ pot ser considerablement menys efectiu del que es conclou segons els resultats de la microscòpia. Les dades descrites en aquest capítol posen de manifest la importància de més investigació sobre l'eficàcia del tractament amb PZQ en combinació amb diagnòstics d'antigen precisos i sensibles.

Al **Capítol 5**, vam comparar el valor afegit de la detecció de CAA a l'orina i al sèrum en comparació amb les proves d'anticossos i de PCR, en un estudi prospectiu basat en viatgers holandesos que han estat recentment a zones endèmiques on hi ha el paràsit. Els nostres resultats van demostrar que només una petita proporció dels exposats durant el viatge van establir una infecció activa que es podia diagnosticar mitjançant el test UCP-LF CAA. Després del tractament amb PZQ, els nivells de CAA al sèrum en aquests pocs individus van baixar a nivells indetectables a les 6 setmanes i es van mantenir negatius després de 6 mesos. Aquests resultats van confirmar que la detecció de CAA mostra una infecció activa per *Schistosoma* i que PZQ va tenir un efecte sobre les infeccions lleus.

Mentre que els estudis de camp en zones endèmiques proporcionen informació sobre infeccions naturals, els models animals permeten respondre preguntes sobre CCA i CAA com a antigens de diagnòstic, que sinó romandrien sense resposta en humans. El **Capítol 6** vam descriure els patrons d'excreció de CAA i CCA explorant un model de ratolí després d'exposar-los a 36 cercàries de *S. mansoni* 'només mascles', 'només femelles' i 'mixtes' (mascle/femella). Es van recollir mostres d'orina i sèrum de tots els ratolins per mesurar la detecció d'antigen a l'inici, a les setmanes 3, 6, 9 i 12 després de la infecció. Hem trobat que els cucs *Sm* 'només mascles' regurgiten més CAA (*in vivo* i *ex vivo*) i més CCA (*ex vivo*) que els cucs *Sm* 'només femelles'. Quan es van mesurar cultius dels cucs *ex vivo*, generalment es va trobar més CAA que CCA produït per cuc, tant en cucs unisexuals com mixtos. El nostre estudi confirma que els nivells de CAA reflecteixen la quantitat de cucs i permeten la detecció d'infeccions d'un sol sexe fins i tot quan no n'hi ha gaires de cucs. Aquests resultats suggereixen que el coneixement dels patrons d'excreció d'espècies de *Schistosoma* de CCA o CAA és útil per apreciar les limitacions dels testos de diagnòstic en

determinats entorns i per facilitar la presa de decisions com ara intervencions de salut pública sobre la base dels resultats de l'assaig d'antigen.

Conclusió

En conjunt, els estudis d'aquesta tesi han tractat la interpretació dels testos d'antigen circulant d'esquistosomes en regions endèmiques i no endèmiques, recolzats per dades obtingudes d'un estudi en animals. Es pot atribuir un valor diagnòstic diferent segons quin mètode s'utilitzi i dins de diferents contextos. Hem demostrat que l'excreció d'antigen pot diferir entre esquistosomes mascles o femelles. Finalment, aquesta tesi destaca la importància d'una millor comprensió dels patrons d'excreció d'antigen per diferents espècies per així donar suport a l'optimització del diagnòstic basat en antigen de l'esquistosomiasi.