



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).

SVENSK SAMMANFATTNING

Snäckfeber eller bilharzia (på engelska schistosomiasis) är en parasitisk infektion som orsakas av flundremaskar (trematoder) av släktet *Schistosoma*. Det är en försummad tropisk sjukdom som främst drabbar befolkningar som lever i fattigdom utan tillräcklig sanitet. Behandling av alla former av schistosomiasis förlitar sig främst på ett läkemedel, praziquantel (PZQ), på grund av dess höga effektivitet och utmärkta säkerhetsprofil. PZQ är dock ineffektivt mot unga maskar vilket kan bidra till att infektionen kvarstår efter behandling. Dessutom är den uppskattade effekten av PZQ beroende av det diagnostiska verktyg som används.

Framtidsplanen WHO 2030 för schistosomiasis kräver utveckling av mycket känsliga och specifika fältdistribuerbara diagnostiska metoder för utvärdering före och efter medicinsk intervention. Diagnos spelar en nyckelroll i beslutsfattandet om behandling av enskilda fall samt för att vägleda kontrollprogram såsom tillämpning av massläkemedelsadministration (MDA) i endemiska miljöer. Bristen på robusta diagnostiska verktyg försämrar dock den kvantitativa bedömningen och övervakningen av schistosominfektioner, vilket är avgörande för att identifiera infektioner och för att avbryta spridningen.

På grund av parasitens intravaskulära lokalisering kan maskar inte direkt kvantifieras i infekterade människor, därför är diagnosen av *Schistosoma mansoni* (*S. mansoni*) infektioner traditionellt baserad på mikroskopi samt identifiering av schistosomägg i avföringen. Äggmikroskopi saknar dock känslighet, särskilt för att upptäcka infektioner med låg intensitet, såsom i efterbehandlingsmiljöer. Brist på äggdetektion indikerar således inte nödvändigtvis botemedel och det underskattar prevalensen. Andra metoder för detektion, såsom maskhärlett cirkulerande katodantigen (CCA) i urin eller cirkulerande anodiskt antigen (CAA) i urin och serum, samt serologiska tester har därför fått mer uppmärksamhet.

Även om detektion av de schistosomcirkulerande antigenerna CCA och CAA har bevisat sin diagnostiska potential, finns det fortfarande flera frågor att reda ut. Det är till exempel okänt om schistosomernas reproduktionsmognad påverkar mängden antigen som produceras, eller om maskar av han- och honkön har jämförbara uppstötningsmönster och antigenproduktion.

Denna avhandling syftar till att utforska och belysa hur man tolkar schistosom-CCA och -CAA. I början av avhandlingen visade vi vikten av standardisering vid läsning av POC-CCA-testresultat (kapitel 2). I kapitel 3 bedömde vi specificiteten hos POC-CCA vid testning

av icke-endemiska urinprover. I kapitel 4 och 5 utforskade vi schistosomcirkulerande antigenbaserade metoder i både endemiska och resande miljöer. Avslutningsvis gav kapitel 6 insikter i sambandet mellan infektionsintensitet baserat på en gnagarmodell och kvantifieringen av antigener både *in vivo* och från maskkulturer. En djupare kunskap om CCA och CAA i olika sammanhang skulle kunna förbättra tillämpningen av nuvarande och framtida diagnostiska metoder.

Studier som beskrivs i denna avhandling

I **Kapitel 2** utvecklade och utvärderade vi ett innovativt tillvägagångssätt för semikvantitativ tolkning av POC-CCA-kassetterna, kallat G-scores (från engelska) med syftet att standardisera och stödja visuell gradering av POC-CCA. G-scores är en serie artificiella kassetter som innehåller bläckstråletryckta remsor av olika intensitet för att gradera POC-CCA-testlinjen på en skala från 1 till 10. Vi utvärderade urin från ett *S. mansoni* endemiskt område och linjerna från POC-CCA jämfördes visuellt mot G-scores. En signifikant positiv korrelation observerades mellan G-scores och ägg per gram avföring. Denna proof-of-concept-studie visar användbarheten av G-scores för att standardisera den visuella graderingen av POC-CCA-urinremstest. Det föreslås också ytterligare hjälp med att hantera frågor såsom skillnader mellan batcher samt tolkning av spår.

Nyligen genomförda observationer har väckt oro för eventuell minskad specificitet av POC-CCA, särskilt hos gravida kvinnor (PW) och förskolebarn (PSAC). Det finns dock begränsade data om hur POC-CCA-urintestet fungerar i dessa grupper eftersom de ofta har uteslutits i kontrollprogram baserade på MDA. I **Kapitel 3** utvärderade vi resultatet av POC-CCA-urintestet i en icke-endemisk population, PW och barn under 4 år som bodde i Nederländerna, utan någon känd exponering för en *Schistosoma*-infektion. De högsta poängen återfanns hos de yngsta barnen, med ett spädbarn på 9 månader som det äldsta positiva fallet. Vid mätning av pH visade det sig att alla starkt positiva POC-CCA-uriner var sura (pH-intervall 5–5,5), medan tillsats av pH-neutral buffert till ett delprov vände den falska positiviteten. Dessa fynd tyder på att POC-CCA-testet har minskad specificitet hos PW och spädbarn yngre än 9 månader, men att den falska positiviteten kan elimineras genom modifieringar av buffertarna som används i testet.

I **Kapitel 4** fastställde vi effektiviteten av en enstaka gentemot fyra upprepade behandlingar med PZQ på *S. mansoni*-infektion hos barn i skolåldern från Elfenbenskusten, med hjälp av två olika diagnostiska test (POC-CCA urintest och avföringsmikroskopi). Resultaten visade en signifikant minskning av ägg (avföring, mikroskopi) och CCA (urin, POC-CCA) efter en behandling, men en snabb återkomst om ingen ytterligare behandling gavs. Till och med efter 4 upprepade behandlingar var många deltagare negativa genom mikroskopi men var fortfarande positiva med POC-CCA. Resultaten avslöjade

avvikelser mellan POC-CCA och mikroskopi, vilket speglar parasitens olika livsstadier. Detta indikerar också att CCA-producerande maskar fortfarande är närvarande efter flera behandlingsomgångar och att PZQ kan vara avsevärt mindre effektiv än vad som kan konkluderas baserat på mikroskopieresultat. Datan som beskrivs i det här kapitlet belyser vikten av ytterligare forskning på PZQ-behandlingens effektivitet i kombination med korrekt och känslig antigen-diagnostik.

I **Kapitel 5** jämförde vi mervärdet av att detektera urin och serum-CAA jämfört med serumantikroppar och PCR-tester, i en prospektiv studie baserad på holländska resenärer som nyligen har varit i endemiska områden. Våra resultat visade att endast en liten del av de som exponerades under resor etablerade en aktiv infektion som kunde diagnostiseras med UCP-LF CAA-testet. Efter behandling med PZQ sjönk serum-CAA-nivåerna hos dessa få individer till odetekterbara nivåer vid 6 veckor och förblev negativa efter 6 månader. Dessa upptäckter bekräftade att CAA-detektion visar en aktiv *Schistosoma*-infektion och att PZQ faktiskt hade en effekt på lätta infektioner.

Medan fältstudier i endemiska områden ger insikter från naturliga infektioner, tillåter djurmodeller att svara på frågor om CCA och CAA som diagnostiska antigener som skulle förbli obesvarade hos människor. **Kapitel 6** beskrev CAA- och CCA-utsöndringsmönster genom att utforska en musmodell efter exponering för 36 hancercariae, honcercariae samt en blandning av han- och honcercariae av *S. mansoni*. Urin- och serumprover samlades in från alla möss för antigen-detektionsmätningar vid start, samt vid vecka 3, 6, 9 och 12 efter infektion. Vi fann att *Sm*-maskar från endast hancercariae regurgiterade mer CAA (*in vivo* och *ex vivo*) och mer CCA (*ex vivo*) än *Sm*-maskar från endast honcercariae. Vid mätning av *ex vivo* maskkulturer fann vi i allmänhet mer CAA än CCA producerat per mask bland både enkönade och blandade maskar. Vår studie bekräftar att CAA-nivåer återspeglar maskkvantiteten och tillåter upptäckt av lågintensiva enkönade infektioner. Dessa fynd tyder på att kunskap om *Schistosoma*-arters utsöndringsmönster av CCA eller CAA är användbar för att uppskatta testbegränsningar i vissa miljöer och underlätta beslutsfattande för folkhälsointerventioner på basis av antigen-testresultat.

Slutsats

Sammantaget har studierna i denna avhandling inriktat sig på tolkningen av schistosomcirkulerande antigen-tester i endemiska och icke-endemiska regioner, med stöd av data erhållna från en djurstudie. Olika diagnostiska värden kan tillskrivas olika tester inom olika sammanhang. Vi har visat att antigenutsöndring kan skilja sig mellan enkönade manliga och kvinnliga schistosomer. Slutligen belyser denna avhandling vikten av en bättre förståelse av antigenutsöndringsmönster hos olika arter för att stödja optimering av antigenbaserad diagnostik av schistosomiasis.

