



NUEVOS MÉTODOS DIAGNÓSTICOS EN ESQUISTOSOMIASIS NEW DIAGNOSTIC METHODS IN SCHISTOSOMIASIS

Autores

María Jesús Andrés Otero
Francisco López Alcutén
Miguel Ansón Manso

Centro

Servicio de Bioquímica Clínica,
Hospital Clínico Universitario
Lozano Blesa, Zaragoza.

Fecha de publicación

28abril 2016

Páginas

Páginas 9-13



Figura 1. Huevo de *Schistosoma Haematobium* observado en sedimento urinario del paciente. **Figure1.** Egg *Schistosoma Haematobium* observed in urinary sediment patient.

Paciente varón de 23 años y raza negra, procedente de África que acude al servicio de urgencias remitido por su médico de Atención Primaria por hematuria de evolución subaguda/crónica y dolor lumbar. En la analítica destaca eosinofilia (11.7%) y se confirma la presencia en el sedimento de orina de huevos de *Schistosoma Haematobium*.

Male patient, 23 years old and black, from Africa who come to the emergency referral from your primary care physician with hematuria subacute / chronic evolution and lumbar pain. In the analytical highlights eosinophilia (11.7%) and the presence in urine sediment *Schistosoma* eggs *Haematobium* is confirmed.

El *S. haematobium* es el trematodo sanguíneo de la vejiga y produce la esquistosomiasis vesical o urinaria con hematuria, puede afectar también al sistema digestivo, al hígado o a los pulmones de su hospedador definitivo. El *S. haematobium* que vive en los plexos perivesicales, los huevos se acumulan principalmente en el aparato urinario y se eliminan con la orina. En ocasiones los huevos producen reacciones inflamatorias en otras partes del organismo siendo especialmente graves las localizaciones medulares (*S. mansoni* *S. haematobium*) y del sistema nervioso central (*S. japonicum*) (Figura 1)¹.

Schistosomiasis is used to group all clinical manifestations caused by different species of the genus *Schistosoma*, which in its adult stage parasites mainly the portal venous system of man. *S. haematobium* is trematode blood bladder and produces the bladder or urinary schistosomiasis with hematuria; it can also affect the digestive system, the liver or the lungs of the definitive host. *S. haematobium* living in the perivesicalplexi, eggs accumulate mainly in the urinary tract and are eliminated in the urine. Sometimes eggs produce inflammatory reactions in other parts of the body being especially severe spinal locations (*S. mansoni* or *S. haematobium*) and central nervous system (*S. japonicum*) (Figure 1)¹.

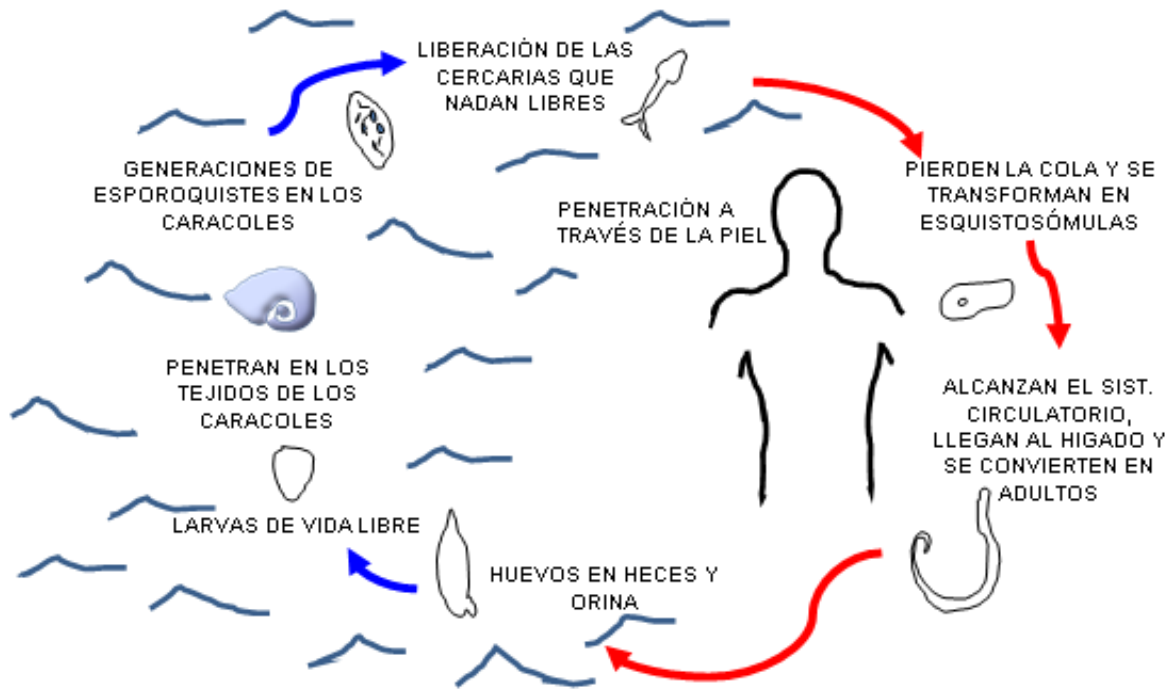


Figura 2. Ciclo de vida del Schistosoma. **Figure 2.** Schistosoma lifecycle.

El diagnóstico en el laboratorio de urgencias se realiza a través de la visión al microscopio del sedimento urinario. Se examina la totalidad del sedimento en busca de huevos de *S. haematobium* cuando existe la sospecha clínica. La observación directa al microscopio es de gran utilidad en la valoración diagnóstica inicial pero tiene como principal limitación su baja sensibilidad en fase aguda de enfermedad o en pacientes con baja intensidad de parasitación por lo que deben practicarse varios exámenes de cribado. Además la eliminación de los huevos por parte del parásito se produce al cabo de varias semanas después de la infestación y puede demorarse durante varios meses. Una vez administrado el tratamiento, la eliminación continúa durante un tiempo relativamente prolongado, sin que esto signifique un fallo terapéutico²⁻⁵. En la figura 2 se observa un huevo de *S. haematobium* en el sedimento de orina.

The laboratory diagnosis is performed through microscopic vision urinary sediment. The entire pellet was examined for eggs of *S. haematobium* when clinical suspicion exists. Direct microscopic observation is useful in the initial diagnostic assessment but whose main limitation its low sensitivity in the acute phase of illness or in patients with low intensity of parasitism so should be practiced several screening tests. Besides eliminating the parasite eggs it occurs after several weeks after infection and may be delayed for several months. Once administered the treatment, elimination continues for a relatively long time, without this meaning a therapeutic failure²⁻⁵. Figure 2 show an egg of *S. haematobium* seen in urine sediment.

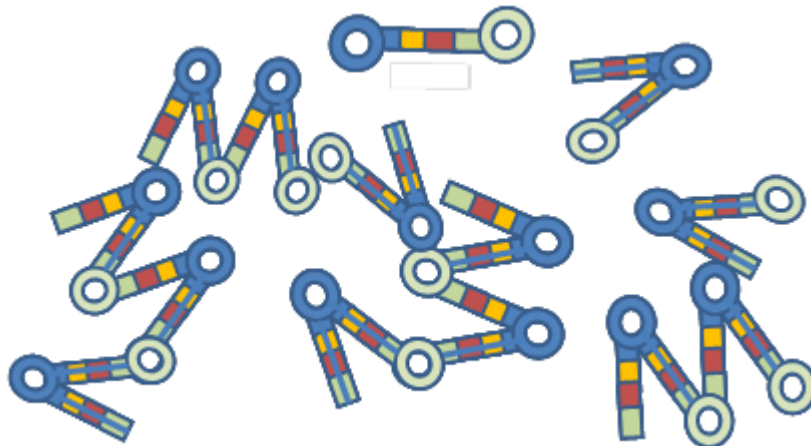


Figura 3. LAMP Loop mediated isothermal Amplification, está basado en la síntesis de ADN por desplazamiento de cadena, usa una polimerasa con actividad de desplazamiento y cuatro cebadores, dos internos y dos externos. Los productos finales son una mezcla de ADN en herradura con diferentes longitudes en su tallo y con estructuras con múltiples bucles. **Figure 3.** LAMP Loop mediated isotherma lAmplification, está basado en la síntesis de ADN por desplazamiento de cadena, usa una polimerasa con actividad de desplazamiento y cuatro cebadores, dos internos y dos externos. Los productos finales son una mezcla de ADN en herradura con diferentes longitudes en su tallo y con estructuras con múltiples bucles.

El diagnóstico serológico se realiza mediante ELISA, determinando los títulos de anticuerpos anti-esquistosoma, es una técnica muy sensible que permite realizar un diagnóstico precoz de la enfermedad. Pero los títulos pueden persistir positivos muchos meses después de un tratamiento eficaz, así que no permite diferenciar una infección actual de una infección ya pasada, además de que puede presentar reacciones cruzadas que interfieren en la técnica²⁻⁵.

El diagnóstico molecular basado en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) puede alcanzar una sensibilidad para la esquistosomiasis aguda mayor que la de la serología y una especificidad que puede llegar al 100%⁶. Se pueden amplificar secuencias comunes a partir de cebadores específicos de la región 28S del RNA ribosomal de *S. haematobium*, *S. mansoni* y *S. intercalatum*, en muestras de orina, para poder realizar el diagnóstico de las 3 especies de esquistosomiasis importada^{2,6,7}. Recientes estudios demuestran una gran eficacia diagnóstica para detectar DNA de todas las especies de esquistosomas en muestras de orina y en heces pero parece existir menor eficacia en muestras de suero^{3,4}.

Un grupo de investigadores españoles están desarrollando para el diagnóstico de la esquistosomiasis en un modelo murino usando una variante de la PCR llamada Amplificación Isotérmica (*LAMP: Loop-Mediated Isothermal Amplification Method*)⁸. Se utilizan múltiples cebadores en condiciones isotérmicas (60-65 °C) para la amplificación de la secuencia diana por lo que no se necesita termociclador. Otra de sus ventajas es que se realiza en un solo paso la amplificación y la detección. Debido a que producen enormes cantidades de producto amplificado en un tiempo relativamente corto, el producto puede detec-

Serological diagnosis is performed by ELISA, determining the antibody titers of anti Schistosoma, is a highly sensitive technique that allows early diagnosis of the disease. But the titles may persist positive many months after effective treatment, so it does not differentiate a current infection of a bygone infection, plus it can present cross reactions that interfere in the art²⁻⁵.

Molecular diagnosis based on the polymerase chain reaction (PCR) can reach a greater sensitivity for acute schistosomiasis than serology and specificity that can reach 100%⁶. Common sequences can be amplified from specific primers of the 28S ribosomal RNA region of *S. haematobium*, *S. mansoni* and *S. intercalatum*, in urine samples, to make the diagnosis of the 3 species of schistosomiasis imported^{2,6,7}. Recent studies show high diagnostic efficacy in detecting DNA of all species of schistosomes in urine and faeces but appears to be less effective in serum samples^{3,4}.

A group of Spanish researchers are developing for the diagnosis of schistosomiasis in a mouse model using a variant of PCR called Isothermal Amplification (*LAMP: Loop-Mediated Isothermal Amplification Method*)⁸. Multiple primers are used in isothermal conditions (60-65 °C) for amplification of the target sequence so need not thermocycler. Another advantage is that it is done in one step amplification and detection, because produce huge amounts of amplified product in a relatively short time, the product can be detected easily by turbidity or fluorescence display (Figure 3).

This methodology offers new possibilities in the detection of schistosomiasis and other parasitic among many of its applications.

tarse de forma sencilla por visualización de turbidez o fluorescencia (Figura 2).

Esta metodología ofrece nuevas posibilidades en la detección de la esquistosomiasis y otros parásitos entre otras muchas de sus aplicaciones.

Bibliografía/References:

1. Pereira A, Pérez M. Laboratorio de Parasitología. O F F A R M. 2004 (23); 6.
2. Procedimientos en Microbiología Clínica Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica Editores: Emilia Cercenado y Rafael Cantón.
3. Enk MJ, Oliveira e Silva G, Rodrigues NB. Diagnostic accuracy and applicability of a PCR system for the detection of *Schistosoma mansoni* DNA in human urine samples from an endemic area. *PloSone* 7 2012: e38947.
4. Cnops L, Tannich E, Polman K, Clerin K and Van Esbroeck M. *Schistosoma* real-time PCR as diagnostic tool for international travellers and migrants. *Tropical Medicine and International Health* doi:10.1111/j.1365-3156.2012.03060.x. 2012 (17); 10: 1208–1216.
5. Pardo J, Pérez-Arellano JL, Galindo I, Belhassen M, Cordero M, Muroa A. Diagnóstico de helmintiasis importadas. Laboratorio de Inmunología Parasitaria y Molecular. Ciset. Facultad de Farmacia. Universidad de Salamanca.
6. Verweij Jaco J., Rune Stensvold C. Molecular Testing for Clinical Diagnosis and Epidemiological Investigations of Intestinal Parasitic Infections. *Clinical Microbiology Reviews* 2014 (27) 2: 371–418.
7. J. Utzinger, S. L. Becker, L. van Lieshout, G. J. van Dam and S. Knopp. New diagnostic tools in schistosomiasis. *Clinical Microbiology and Infection*. 2015 (21), 6.
8. Fernández-Soto P, Gandasegui-Arahetes J, Sánchez-Hernández A, López-Abán J, Vicente-Santiago B, Muro A. A Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP) Assay for Early Detection of *Schistosoma mansoni* in Stool Samples: A Diagnostic Approach in a Murine Model. *PLoS Neglected Tropical Diseases*. 2014, 4; 8(9):e3126. DOI: 10.1371/journal.pntd.0003126.