

Diagnosis *Schistosomiasis* dengan Metode *Dot Blot*

The Diagnosis of Schistosomiasis by Dot Blot Method

Samarang*, Made Agus Nurjana, Malonda Maksud, Phetisya Pamela Frederika Sumolang, dan Gunawan

Balai Penelitian dan Pengembangan Pengendalian Penyakit Bersumber Binatang (P2B2) Donggala, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Kementerian Kesehatan RI, Jl. Masitudju No. 58 Desa Labuan Panimba, Kecamatan Labuan, Kabupaten Donggala, Sulawesi Tengah, Indonesia

*Korespondensi Penulis: samarangp@gmail.com

Submitted: 21-09-2016, Revised: 11-06-2017, Accepted: 18-07-2017

<http://dx.doi.org/10.22435/mpk.v27i2.5513.99-104>

Abstrak

Diagnosis *schistosomiasis* untuk mendeteksi antigen ekskretori sekretori (AgES) *Schistosoma japonicum* (*S. japonicum*) dengan metode ELISA, telah dikembangkan sejak tahun 2012 melalui uji laboratorium dengan hasil cukup baik, sehingga perlu dilakukan uji lapangan. Berdasarkan hal tersebut peneliti melakukan uji lapangan diagnosis *schistosomiasis* dengan *dot blot* di Napu, Kabupaten Poso, Provinsi Sulawesi Tengah. Penelitian dilaksanakan selama sembilan bulan (Maret - November 2014) dengan desain *cross sectional*. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan sensitivitas dan spesifisitas *dot blot* yang dikembangkan. Survei tinja dan darah dilakukan pada masyarakat di desa endemis terpilih dengan metode *simple random sampling*, dengan jumlah sampel sebanyak 325 orang. Selanjutnya serumnya diuji ELISA dengan teknik *dot blot*. Sensitivitas dan spesifisitas teknik *dot blot* dihitung terhadap hasil pemeriksaan mikroskopis (*gold standard*). Hasil uji lapangan menunjukkan nilai sensitivitas dan spesifisitas dari teknik *dot blot* adalah sebesar 74% dan 78%. Kesimpulan teknik *dot blot* dapat mendeteksi *schistosomiasis* pada skala laboratorium maupun pada skala lapangan.

Kata kunci: *Schistosomiasis*, *Dot blot*, sensitivitas, spesifisitas

Abstract

The diagnosis of schistosomiasis to detect secretory excretory antigen (AgES) Schistosoma japonicum by ELISA method, has been developed since 2012 through laboratory tests with good result, so it is necessary to do field test. Based on this the researchers conducted field tests, of schistosomiasis with dot blot in Napu, Poso district, Central Sulawesi Province. This study was conducted for nine months (March-November 2014) with cross sectional design. This study aims to determine the sensitivity and specificity of ELISA developed (dot blot). Fecal and blood surveys were conducted in communities in selected endemic villages, using simple random sampling method, with a total sample of 325 people. Furthermore, the blood serum tested using ELISA with dot blot technique. The sensitivity and specificity of the blot technique was calculated against the results of microscopic examination (gold standard). Field test result showed the sensitivity and specificity of dot blot was 74% and 78%. Conclusion dot blot technique can detect Schistosomiasis on a laboratory scale or on a field scale.

Keywords: *Schistosomiasis*, *Dot blot*, sensitivity, specificity

Pendahuluan

Schistosomiasis adalah penyakit zoonotik dan masih merupakan masalah kesehatan masyarakat, yang disebabkan oleh sejenis cacing famili *Schistosomatidae* yang memiliki habitat pada pembuluh darah di sekitar usus atau kandung kemih. Penyebaran *schistosomiasis* sangat luas

di daerah tropis maupun subtropis.¹ Infeksi *Schistosoma* dapat menimbulkan gejala-gejala yang bersifat umum seperti gejala keracunan, disentri, penurunan berat badan, penurunan nafsu makan, kekurusan dan lambatnya pertumbuhan pada anak-anak.² Pada penderita yang sudah kronis dapat menimbulkan pembengkakan hati

yang umumnya berakhir dengan kematian.³ Di Indonesia *schistosomiasis* pada manusia hanya ditemukan di Sulawesi Tengah daerah dataran tinggi Lembah Napu, Lindu, dan Bada yang disebabkan oleh *Schistosoma japonicum*. Pengendalian *schistosomiasis* di Sulawesi Tengah diawali tahun 1974 dan berlangsung hingga sekarang, namun hasilnya masih berfluktuasi.^{4,5} Program pengendalian yang dilakukan hingga saat ini belum dapat menekan angka kejadian *schistosomiasis*, karena adanya re-infeksi dari berbagai reservoir termasuk hewan liar diantaranya tikus, ternak, bahkan masyarakat sendiri sebagai hospes pembawa, sehingga *schistosomiasis* sulit untuk dikendalikan.⁶ Selama ini program pengendalian dan pengobatan meliputi fisik (pembakaran, pembuatan saluran air, manipulasi lingkungan), maupun kimia (*moluscisida*) untuk pengendalian keong *Oncomelania hupensis lindoensis* (*O. hupensis lindoensis*), termasuk penemuan penderita melalui pemeriksaan tinja secara konvensional.

Deteksi dini pada masa pre paten untuk penderita *schistosomiasis* di Sulawesi Tengah hingga kini belum dilakukan, sehingga penderita hanya dapat terdeteksi melalui pemeriksaan tinja secara konvensional. Menurut laporan Dinas Kesehatan Provinsi Sulawesi Tengah 2009, di Kabupaten Poso yang meliputi 18 dusun fokus penularan *schistosomiasis*, sekitar 3,80% masyarakat terinfeksi *schistosomiasis* dari 2157 masyarakat yang diperiksa tinja, dan tahun 2010 meningkat menjadi 5,71% yang terinfeksi *schistosomiasis* dari 8360 yang diperiksa. Di Kabupaten Sigi 2,50% masyarakat terinfeksi *schistosomiasis* tahun 2010 dan meningkat menjadi 3,03% dari 4826 masyarakat yang diperiksa di tujuh desa.⁷

Pemeriksaan secara konvensional yang masih merupakan kegiatan rutin, hasilnya tidak langsung dapat diketahui dan harus menunggu 3-5 hari. Petugas mengumpulkan tinja 2-3 hari, setelah sampel tinja terkumpul kemudian dilakukan pencetakan pada *slide* sesuai metode Kato, hari ketiga atau empat baru dilakukan pemeriksaan telur cacing secara mikroskopis, hari kelima petugas menyampaikan hasil kepada masyarakat yang telah mengumpulkan tinjanya.⁸ Hal ini menimbulkan kemalasan dan kejenuhan di masyarakat untuk mengumpulkan sampel tinja serta keterlambatan penemuan penderita yang berdampak pada pengendalian, sehingga perlu terobosan baru yang dapat mendeteksi *schistosomiasis* secara cepat dan akurat.

Hasil penelitian yang telah dikerjakan pada tahun 2012 menghasilkan konformasi model optimal dengan antibodi 1 µg/ml sebagai *capture* dapat mendeteksi AgES dalam serum penderita dengan 20 kali pengenceran dengan waktu pembacaan setelah 30 menit.⁸ Hasil penelitian tahap kedua tahun 2013 yang masih merupakan uji di laboratorium, diperoleh sensitivitas sebesar 74% dan spesifisitas sebesar 90% dari model *Enzyme Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) yang dikembangkan.⁹ Penelitian tersebut masih merupakan uji laboratorium sehingga perlu dilakukan penelitian uji lapangan diagnosis *schistosomiasis* dengan metode *dot blot* pada penderita di Napu Sulawesi Tengah. Tujuannya adalah mengembangkan diagnostik cepat untuk mendeteksi AgES *S. japonicum* pada penderita *schistosomiasis*. Bila nilai sensitivitas dan spesifisitas komunitas pada ELISA yang dikembangkan dengan menggunakan metode tersebut pada komunitas adalah tinggi, berarti ditemukan suatu produk tes cepat dan merupakan terobosan baru yang dapat menjawab masalah program pada pendeteksian *schistosomiasis* secara dini, serta dapat menjadi acuan dalam penjarangan penderita *schistosomiasis* di Indonesia.

Metode

Penelitian ini merupakan penelitian *cross-sectional* (potong lintang) dengan jenis penelitian observasional yang telah disetujui oleh Komite Etik Penelitian Kesehatan. Penelitian dilakukan di daerah Dataran Tinggi Napu, Kabupaten Poso, Sulawesi Tengah, selama 9 bulan mulai bulan Maret sampai November tahun 2014. Populasi adalah seluruh masyarakat di Dataran Tinggi Napu. Masyarakat yang menjadi sampel dalam penelitian ini sebanyak 325 orang. Sensitivitas dan spesifisitas ditentukan menggunakan uji validitas dengan tabel 2x2. Metode uji yang digunakan yaitu *dot blot* dengan ELISA tidak langsung secara lateral. Dalam pengumpulan spesimen sampel dilakukan survei yaitu survei tinja dan survei darah. Survei tinja dilakukan pada 325 orang dari masyarakat desa terpilih, masyarakat diberi pot untuk wadah tinja sebanyak 3 buah per orang. Jumlah tinja yang dikumpulkan yaitu sekitar 100 gr ditampung dalam pot tinja. Selama tiga hari petugas melakukan pengumpulan tinja, bagi masyarakat yang tidak mengumpulkan tinja setelah 3x kunjungan maka responden dianggap batal. Sampel tinja yang terkumpul dipreparasi menggunakan metode

Kato Katz.¹⁰ Spesimen diperiksa di bawah mikroskop *compound*, dengan perbesaran 10x10 untuk pencarian lapangan pandang, dan 10x40 untuk mengidentifikasi telur cacing yang ditemukan. Dari daftar nama masyarakat yang positif telur cacing *S. japonicum* dan masyarakat yang negatif telur cacing dalam sampel tinjanya dibuat daftar untuk digunakan sebagai pedoman pengambilan sampel darah selanjutnya. Sampel darah diambil sebanyak ± 3-4 tetes langsung dimasukkan dalam evendor. Selanjutnya evendor yang telah berisi darah diletakkan pada wadah yang telah disiapkan dalam posisi agak miring untuk mempercepat terbentuknya serum dari darah yang telah dikumpulkan. Serum responden yang telah terbentuk digunakan sebagai bahan dalam uji *dot blot*. Jumlah serum yang dibutuhkan dalam setiap pengujian *dot blot* yaitu sebanyak 30 µl/uji. Uji *dot blot* merupakan metode ELISA tidak langsung secara horisontal atau biasa disebut *Flow Lateral Test (FLT)* di atas membran *Nitrocellulose (NC)*.¹¹ Sebelum melakukan pengujian koloidal *gold* dikonjugasi

dengan IgG α *S. japonicum*, kemudian dibuat rangkaian rapid tes dari NC untuk *dot blot*. Pada teknik pengujian rapid *dot blot*, 30 µl sampel serum dimasukkan, lalu ditetesi dengan 2-3 tetes larutan *buffer* dan ditunggu hingga sampel merata mencapai garis *adsorbent pad*. Setelah 15-30 menit garis yang terbentuk diamati pada bagian garis T (*Treatment*) dan garis C (*Control*). Secara visual bila terbentuk garis hanya di bagian garis C, berarti hasil pemeriksaan negatif, dan bila terbentuk dua garis (pada bagian garis C dan garis T), berarti hasil positif. Penentuan sensitivitas dan spesifisitas uji *dot blot* dihitung berdasarkan perbandingan hasil pemeriksaan mikroskopis dengan hasil pemeriksaan *dot blot*. Perhitungan sensitivitas dan spesifisitas dilakukan dengan uji validitas menggunakan tabel 2x2.¹²

Hasil

Hasil pemeriksaan mikroskopis dari 325 orang sampel dalam survei tinja yang dilakukan adalah sebagai berikut.

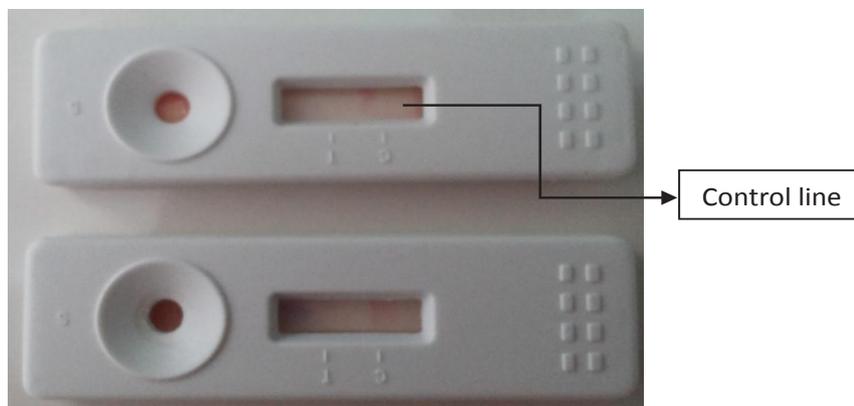
Tabel 1. Hasil Pemeriksaan Sampel Tinja Secara Mikroskopis di Dataran Tinggi Napu Kabupaten Poso, Sulawesi Tengah, 2014

No	Σ Sampel	Hasil Pemeriksaan Mikroskopis		
		(+) Schistosomiasis	(+) Nematodosis	(-) Kecacingan
	325 orang	17,54% (57)	22,77% (74)	59,69% (194)

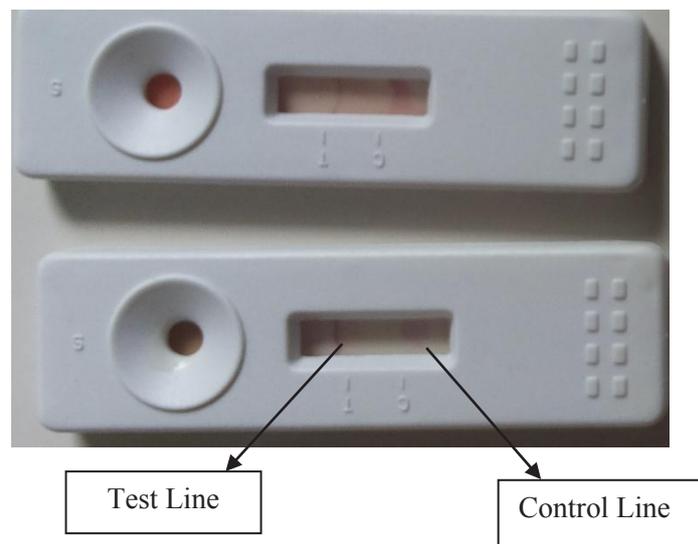
Tabel 2. Hasil Uji Dot Blot Menggunakan Tabel 2x2 untuk Perhitungan Nilai Sensitivitas dan Spesifisitas di Dataran Tinggi Napu Kabupaten Poso, Sulawesi Tengah, 2014

Dot Blot	Mikroskopis (gold standard)		Jumlah
	(+)	(-)	
(+)	37	35	72
(-)	13	121	134
Σ	50	156	206

Besarnya sensitifitas *dot blot* = $37/(37 + 13) \times 100\% = 74\%$, dan spesifisitas = $121/(35 + 121) \times 100\% = 78\%$.



Gambar 1. Hasil Pengujian Sampel Serum yang Menunjukkan Hasil Negatif *Schistosomiasis* di Dataran Tinggi Napu Kabupaten Poso Sulawesi Tengah, 2014



Gambar 2. Hasil Pengujian Sampel Serum yang Menunjukkan Hasil Positif *Schistosomiasis* di Dataran Tinggi Napu Kabupaten Poso Sulawesi Tengah, 2014

Pembahasan

Schistosomiasis adalah penyakit yang bersifat zoonosis sehingga dalam menekan kejadian dan kematian tidak dapat diselesaikan hanya dengan metode pengobatan, oleh karena itu diperlukan pengembangan atau inovasi dalam pengendalian dengan biaya yang lebih sedikit.¹³

Berdasarkan hasil penelitian tersebut banyak penelitian yang melakukan inovasi dalam penanganan *schistosomiasis* termasuk pengembangan diagnosis. Dalam pengembangan metode diagnosis *schistosomiasis* pendekatan secara imunologi telah dikembangkan dan diaplikasikan di China sejak tahun 1960-an. Salah satunya yaitu melihat respon antibodi pada level infeksi tinggi dan rendah secara *humoral* dan seluler.¹⁴ Banyak hambatan yang ditemui dalam pengembangan diagnostik *schistosomiasis*, seperti kurang sensitifnya *tools* yang digunakan dalam mendeteksi penderita pada kepadatan infeksi rendah. Sehingga di China dikembangkan metode *recombinase polymerase amplification* (RPA) dan ELISA.¹⁵ *Dot blot* yang dikembangkan dalam penelitian ini metode ELISA yang menggunakan model FLT yang dirakit menggunakan membran *Nitrocellulose* dengan IgG α ES sebagai *capture* untuk mendeteksi antigen ES *S. japonicum* dalam serum responden. Uji *dot blot* dilakukan pada 206 sampel dengan rincian 50 serum positif *schistosomiasis* dan 156 serum negatif. Hasil pengujian *dot blot* diperoleh nilai sensitifitas 74% dan spesifisitas 78% dengan akurasi uji 77%. Nilai sensitivitas 74% ini menggambarkan kekuatan antara determinan antigen dan antibodi sehingga

berlaku hukum aksi massa karena interaksi antara antigen dalam darah penderita dengan antibodi yang di-*coating*-kan bersifat reversibel atau kebalikannya. Selain menggambarkan kekuatan interaksi, hasil tersebut juga menggambarkan kekhususannya yaitu dengan nilai spesifisitas 78% dimana antibodi akan berikatan kuat dengan suatu antigen khusus dan juga akan berikatan dengan antigen lain yang memiliki struktur mirip. Sebaliknya antibodi yang memiliki afinitas rendah terhadap suatu antigen mungkin akan berinteraksi kurang kuat terhadap antigen lain yang strukturnya mirip dan bila reaksi silang ini tidak terjadi maka antibodi poliklonal tersebut akan tampak bersifat khusus.¹⁶

Deteksi *schistosomiasis* menggunakan *dot blot* hanya membutuhkan $\pm 30 \mu\text{l}$ serum dengan 3-4 tetes *buffer* dan dapat dibaca sekitar 15 menit setelah uji. Hasil pengujian dilihat dari munculnya garis pada *test line* dan *control line*. Sampel dinyatakan positif *schistosomiasis* yaitu apabila dalam uji terbentuk dua garis yaitu *test line* dan *control line* sedangkan untuk hasil negatif garis yang muncul hanya pada *control line*, apabila tidak ada garis yang terbentuk maka pengujian dianggap gagal. Dalam penelitian ini garis yang terbentuk sebagai indikator dalam pembacaan hasil uji pada *dot blot* yang dikembangkan tetap dapat terlihat secara nyata setelah 24 jam pengujian. Deteksi *schistosomiasis* secara imunodiagnosis sangat diperlukan dalam kondisi terjadinya peningkatan kasus, karena teknik ini lebih cepat dan sederhana dibandingkan dengan pemeriksaan secara mikroskopis. Waktu

yang dibutuhkan dalam pengumpulan sampel darah dibandingkan dengan pengumpulan sampel tinja sangat berbeda. Pengumpulan sampel darah membutuhkan waktu sekitar 7 hari untuk 325 sampel sedangkan lama waktu yang dibutuhkan untuk pengumpulan sampel tinja dengan jumlah sampel yang sama sekitar 4-5 minggu. Respon masyarakat pada deteksi *schistosomiasis* secara imunodiagnosis menggunakan darah sebagai sampel sangat baik, yang terlihat dari tingginya partisipasi masyarakat saat dilakukan pengumpulan sampel darah. Masyarakat yang tidak termasuk dalam sampel, bahkan meminta darahnya diambil untuk diperiksa. Metode ELISA sangat membantu dalam penjarangan penderita *schistosomiasis* untuk mendeteksi keberadaan IgG dan AgES dalam darah masyarakat di daerah endemis *schistosomiasis*.¹⁷

Pengembangan imunodiagnosis *schistosomiasis* telah banyak dikembangkan terutama di China dengan berbagai teknik dan metode. Penelitian terdahulu tentang deteksi antibodi dalam serum penderita *schistosomiasis* diungkapkan bahwa “Uji ELISA mempunyai sensitivitas dan spesifisitas tinggi dengan *cross* reaksi yang sangat rendah.”¹⁸ Pada penelitian di Indonesia tahun 2013 dilaporkan bahwa “*cross reaction* antara antigen cacing *S. japonicum* dengan antigen yang dihasilkan oleh cacing lain pada ELISA yang dikembangkan kemungkinan untuk terjadi sangat kecil,”¹⁹ sehingga dilakukan uji lapangan diagnosis *schistosomiasis* dengan *dot blot*. Dalam penelitian lainnya yaitu mengevaluasi antigen sebagai kandidat biomarker untuk diagnosis dini pada tikus dan kelinci menunjukkan hasil bahwa antigen yang dihasilkan oleh cacing muda dapat menjadi biomarker dalam imunodiagnosis awal pada *host* vertebrata.¹⁹

Metode yang lebih akurat, spesifik, dan sensitif yang sesuai dengan pengujian lapangan sangat dibutuhkan, pengembangan pengujian lain tentang diagnostik *schistosomiasis* yang dikembangkan yaitu deteksi secara visual baik itu RPA maupun *Lateral Flow Dipstick* (LFD) untuk mendeteksi DNA dalam sampel tinja, dan menunjukkan hasil sangat potensial untuk penerapan dilapangan.²⁰

Kesimpulan

Nilai sensitivitas dan spesifisitas *dot blot* yang dikembangkan termasuk cukup baik untuk mendiagnosis *schistosomiasis* di Indonesia.

Saran

Perlu dikaji lebih lanjut kelebihan dan kekurangan metode *dot blot* untuk mendiagnosis *schistosomiasis* dibandingkan dengan metode diagnosis lainnya.

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Kepala Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan RI sebagai penyandang dana tahun anggaran 2014. Ketua PPI Pusat Teknologi Kesehatan Masyarakat Badan Litbang Kesehatan, Ketua Komisi Etik Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Kepala Balai Litbang P2B2 Donggala atas disetujuinya usulan penelitian, Bapak drh. Fadjar Satrija, M.S.,Ph.D dan Ibu DR. drh. Sri Murtini, M.Si selaku konsultan dalam penelitian, Pemerintah Daerah Kabupaten Poso, Dinas Kesehatan Provinsi Sulawesi Tengah, Dinkes Kabupaten Poso, Puskesmas di wilayah Napu, dan teman Balai Litbang P2B2 Donggala terutama Andi Tenriangka dan kepada masyarakat Dataran Tinggi Napu yang secara kooperatif telah mendukung kegiatan penelitian ini.

Daftar pustaka

1. Williams JE. Diagnostic medical parasitology. Parasitol Today. 1998;14(3):125–6.
2. Malek EA. Susceptibility of tropicorbid snails from Louisiana to infection with *Schistosoma mansoni*. Am J Trop Med Hyg. 1967;16(6):715–7.
3. Dabbranch J. Zoonosis. Rev Chil Infect. 2003;20(Supl 1):47–51.
4. Garjito TA, Sudomo M, Abdullah, Dahlan M, Nurwidayati A. Schistosomiasis in Indonesia: Past and present. Parasitol Int. 2008;57(3):277–80.
5. Sudomo M. Ecology of schistosomiasis in Indonesia with certain aspects of control. Southeast Asian J Trop Med Public Heal. 1984;15(4):471–4.
6. Nurjana MA, Samarang. Infeksi *Schistosoma japonicum* pada Hospes Reservoir Tikus di Dataran Tinggi Napu, Kabupaten Poso, Sulawesi tengah Tahun 2012. Media Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. 2013. p. 137–42.
7. Surveilans UPT, Informasi DDAN. Profil kesehatan. 2010;(3).
8. Samarang, Nurjana MA, Chadijah S, Tolistiawaty I. Pengembangan metode Elisa untuk mendiagnosis penderita schistosomiasis di Napu Sulawesi Tengah tahun 2012 Elisa Method for Detecting Human Schistosomiasis at Napu Valley, Central Sulawesi in 2012. Jakarta, Ekol Kesehat.

- 2014;13 No. 4(Desember):308–18.
9. Samarang. Deteksi antigen ekskretori-sekretori *Schistosoma japonicum* dengan metode Elisa pada penderita schistosomiasis di Napu Sulawesi Tengah. Jakarta, Media Litbangkes. 2015;25 No 1(Maret):65–70.
 10. Schistosomiasis. DJPPM (P2M) dan PPPL (P2PL). SF dan. Pedoman Pengendalian Schistosomiasis Di Indonesia. 2015. p. 1–124.
 11. He J. Practical Guide to ELISA Development. The Immunoassay Handbook. 2013. p. 381–93.
 12. Mattjik A dan SI. Rancangan percobaan dengan aplikasi SAS dan Minitab. (2). Bogor: IPB Press; 2006.
 13. Olveda DU, Li Y, Olveda RM, Lam AK, McManus DP, Chau TNP, et al. Bilharzia in the Philippines: Past, present, and future. *Int J Infect Dis* [Internet]. International Society for Infectious Diseases; 2014;18(1):52–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijid.2013.09.011>
 14. Xie S-Y, Yuan M, Ji M-J, Hu F, Li Z-J, Liu Y-M, et al. Immune responses result in misdiagnosis of *Schistosoma japonicum* by immunodiagnosis kits in egg-positive patients living in a low schistosomiasis transmission area of China. *Parasit Vectors* [Internet]. 2014;7:95. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3973003&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
 15. Xing W, Yu X, Feng J, Sun K, Fu W, Wang Y, et al. Field evaluation of a recombinase polymerase amplification assay for the diagnosis of *Schistosoma japonicum* infection in Hunan province of China. *BMC Infect Dis* [Internet]. *BMC Infectious Diseases*; 2017;17(1):164. Available from: <http://bmcinfectdis.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12879-017-2182-6>
 16. Warrington R, Watson W, Kim HL, Antonetti FR. An introduction to immunology and immunopathology. *Allergy, Asthma Clin Immunol*. 2011;7:S1.
 17. Cai Y-C, Xu J-F, Steinmann P, Chen S-H, Chu Y-H, Tian L-G, et al. Field comparison of circulating antibody assays versus circulating antigen assays for the detection of schistosomiasis japonica in endemic areas of China. *Parasit Vectors* [Internet]. 2014;7:138. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3978087&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
 18. Zhu Y, Hua W, Xu M, He W, Wang X, Dai Y, et al. A Novel Immunodiagnostic Assay to Detect Serum Antibody Response against Selected Soluble Egg Antigen Fractions from *Schistosoma japonicum*. *PLoS One*. 2012;7(8).
 19. Zhang Y, Zhao J, Wang X, Xu X, Pan W. Evaluation of six novel antigens as potential biomarkers for the early immunodiagnosis of schistosomiasis. *Parasit Vectors* [Internet]. *Parasites & Vectors*; 2015;8(1):447. Available from: <http://www.parasitesandvectors.com/content/8/1/447>
 20. Sun K, Xing W, Yu X, Fu W, Wang Y, Zou M, et al. Recombinase polymerase amplification combined with a lateral flow dipstick for rapid and visual detection of *Schistosoma japonicum*. *Parasit Vectors* [Internet]. *Parasites & Vectors*; 2016;9(1):476. Available from: <http://parasitesandvectors.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13071-016-1745-5>.