

Simple, affordable LED-based fluorescence microscopy for diagnosis of human African trypanosomiasis

Sylvain Biéler
FIND, Geneva, Switzerland

Demonstration of parasites in body fluids is the most accurate way to confirm human African trypanosomiasis (HAT). Fluorescence microscopy (FM) has previously been shown to increase the sensitivity, speed and ease of parasite detection, when compared to other methods. However, the high costs of FM, limited lifespan of the bulb, and the need for a dark room have dramatically constrained its field application in rural settings where HAT occurs. Low-cost, ultra-bright light-emitting diodes (LEDs) have numerous advantages over the expensive lamps used in conventional FM. FIND has partnered with Carl Zeiss and developed the Primo Star iLED, a simple, affordable LED-based fluorescence microscope that does not require a dark room. LEDs dramatically decrease the instrument's power consumption, allowing operation using a battery or solar panel, with more than 10,000 hours bulb life compared to 200 hours for conventional FM bulbs. Evaluation of the Primo Star iLED using acridine orange to stain parasites has shown that the sensitivity, as well as the speed and ease of reading are improved when compared with common bright field microscopy that uses Giemsa staining. To further increase sensitivity, a parasite concentration procedure in which red blood cells from large volumes of sample are lysed without affecting the integrity of parasites, which are then harvested after centrifugation, has recently been optimized. Finally, whereas acridine orange stains both parasites and white blood cells, a number of trypanosome-specific fluorescent probes, including peptide nucleic acids (PNAs), nanobodies and aptamers are also being evaluated.

Une microscopie à fluorescence simple et abordable basée sur des LED pour le diagnostic de la trypanosomiase humaine africaine

Sylvain Biéler
FIND, Genève, Suisse

La démonstration des parasites dans les fluides corporels est la manière la plus précise de confirmer la trypanosomiase humaine africaine (THA). Il a été précédemment démontré que la microscopie à fluorescence (MF) augmentait la sensibilité, la vitesse et la facilité de détection des parasites, en comparaison avec d'autres méthodes. Cependant, les coûts élevés de la MF, la courte durée de vie des ampoules, ainsi que la nécessité d'utiliser une chambre noire, ont très fortement limité son application dans les régions rurales où la THA se rencontre. Des sources de lumière bon marché et ultra lumineuses de type LED (light-emitting diodes) ont de nombreux avantages par rapport aux lampes onéreuses qui sont utilisées en MF conventionnelle. FIND, en partenariat avec Carl Zeiss, a développé le Primo Star iLED, un microscope à fluorescence simple et abordable basé sur des LED, pour lequel une chambre noire n'est pas requise. Les LED réduisant la consommation électrique de l'instrument d'une manière spectaculaire, le microscope peut être utilisé avec une batterie ou un panneau solaire, avec une durée de vie des LED de 10'000 heures, alors que les ampoules utilisées en MF conventionnelle ne durent que 200 heures. L'évaluation du Primo Star iLED en utilisant l'acridine orange pour colorer les parasites a montré que la sensibilité, la vitesse et la facilité de détection des parasites étaient améliorées en comparaison avec la microscopie à fond clair utilisant la coloration de Giemsa. Pour augmenter davantage la sensibilité, une procédure de concentration des parasites a récemment été optimisée, où de larges volumes d'échantillons sont soumis à une lyse des érythrocytes sans affecter l'intégrité des parasites, qui sont ensuite récupérés après centrifugation. Finalement, alors que l'acridine orange colore à la fois les parasites et les leucocytes, plusieurs sondes fluorescentes spécifiques pour les trypanosomes sont aussi en cours d'évaluation, tels que les PNA (peptide nucleic acids), les nanocorps et les aptamères.