



**Universiteit
Leiden**
The Netherlands

Validation of innovative digital microscopes for the diagnosis of schistosomiasis and other helminthiases

Meulah Tcheubousou, B.

Citation

Meulah Tcheubousou, B. (2024, December 5). *Validation of innovative digital microscopes for the diagnosis of schistosomiasis and other helminthiases*.

Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/4170900>

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/1887/4170900>

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

Nederlandse samenvatting

Verwaarloosde tropische ziekten, bekend onder de afkorting NTD's (Neglected Tropical Diseases), vormen een groep van ziekten die hoofdzakelijk in lage- en middeninkomenslanden (vaak afgekort als LMIC's, low and middle income countries) voorkomen. NTD's omvatten vooral infectieziekten en de meesten komen praktisch uitsluitend voor in tropische en subtropische gebieden, onder meer omdat ze geassocieerd worden met armoede en slechte hygiënische omstandigheden, maar ook omdat veel van deze infecties door vectoren (meestal insecten) worden overgebracht. Ondanks hun significante impact op de gezondheid en het sociaaleconomisch welzijn van de aangedane populatie, hebben NTD's historisch gezien altijd minder aandacht gekregen dan andere belangrijke infectieziekten, zoals bijvoorbeeld malaria, tuberculose en HIV. De WHO (de wereldgezondheidsorganisatie van de Verenigde Naties) erkent de urgentie van het bestrijden van NTD's en zij hebben een routekaart ontwikkeld met aanwijzingen hoe de bestrijding van NTD's aan te pakken. Daarin wordt ook aangegeven dat tijdige diagnose cruciaal is voor een effectieve behandeling en dat daarmee langdurige fysieke schade, die veelal met deze chronische aandoeningen gepaard gaat, voorkomen kan worden. Goede diagnostiek is ook van belang voor het in kaart brengen van de prevalentie en de verspreiding van deze infecties alsook voor het monitoren van bestrijdingsmaatregelen.

De belangrijkste NTD's zijn schistosomiasis, infecties met wormen die via de bodem worden overgebracht (vaak afgekort als STH, soil-transmitted helminths) en filariasis. Deze drie aandoeningen zijn wijdverspreid en leiden tot een aanzienlijke morbiditeit en aantasting van de volksgezondheid, vooral in de afgelegen en armere gebieden van LMIC's. Schistosomiasis, een ziekte die wordt overgedragen door contact met besmet water, kan leiden tot ernstige urogenitale en intestinale complicaties. STH-infecties, die - afhankelijk van de soort - worden opgelopen door het oraal binnenkrijgen van parasietenieren of door huidpenetratie van parasietenlarven, leveren vooral bij kinderen een belangrijke bijdrage aan bloedarmoede, ondervoeding en ontwikkelingsstoornissen. Ook lymfatische filariasis en onchocerciasis (rivierblindheid) vereisen een juiste diagnose, niet alleen voor het bepalen van de juiste behandelingsstrategie, maar ook om co-infecties, in het bijzonder met *Loa loa*, te kunnen uitsluiten. Om de wereldwijde ongelijkheid in ziektelast aan te pakken en de gezondheidssituatie van miljoenen mensen over de wereld te verbeteren, is het van belang dat er een gecoördineerde strategie wordt uitgerold voor de diagnose, behandeling en preventie van NTD's.

In LMIC's is het stellen van de diagnose bij NTD's zoals schistosomiasis, STH en verschillende soorten filariasis vooral gebaseerd op een klassieke vorm van laboratoriumonderzoek, waarbij parasietenstadia worden geïdentificeerd en gekwantificeerd doormiddel van microscopisch onderzoek van urine-, ontlasting- en bloedmonsters. Deze methode is niet alleen arbeidsintensief, het vereist ook geschoold personeel. Daarnaast ontbreekt het veelal aan de noodzakelijke laboratoriummiddelen en de juiste infrastructuur. Alternatieve diagnostische benaderingen voor microscopie bestaan onder meer uit het toepassen van een urine sneltest genaamd POC-CCA, voor de detectie van het *Schistosoma* circulerend antigeen CCA, een laterale flow (UCP-LF CAA) test voor de detectie van het *Schistosoma* circulerend antigeen CAA in serum of urine en een bloedcirculatie-antigeentest voor lymfatische filariasis. Daarnaast

wordt er voor schistosomiasis en STH-infecties ook wel gebruik gemaakt van nucleïnezuur-amplificatietests (NAAT's) zoals PCR, waarbij parasieten-specifiek DNA wordt gedetecteerd in urine of ontlasting. Deze testen worden binnen LMIC's voornamelijk toegepast in het kader van wetenschappelijk onderzoek. Ondanks de hogere diagnostische nauwkeurigheid die deze alternatieve methoden bieden, worden ze in LMIC's nog niet routinematig klinisch toegepast. Daarvoor is eerst meer validatieonderzoek en verdere standaardisatie nodig. Daar komt ook bij dat de meeste van deze testen een goede laboratoriuminfrastructuur en specifiek getraind personeel vereist zijn en dat weerhoudt een brede implementatie in gebieden met beperkte economische middelen. Er is meer onderzoek nodig om dit soort diagnostische testen verder te verbeteren en toegankelijker te maken voor toepassingen onder veldomstandigheden in LMIC's.

Vernieuwend is de ontwikkeling van digitale optische diagnostische apparaten (DODD's). Deze apparaten kunnen op geautomatiseerde wijze parasieten in klinische monsters detecteren. Dit kan met behulp van technische aanpassingen van optische systemen van mobiele telefoons of door het gebruik van kant-en-klare optische componenten. Daarbij wordt ook gebruik gemaakt van kunstmatige intelligentie (AI) algoritmen voor beeldanalyse op basis van geïntegreerde sensoren en dataprocessors van mobiele telefoons, in combinatie met eenvoudige computerunits zoals Raspberry Pi en Jetson Nano. Hoewel veel van deze apparaten veelbelovend zijn voor geautomatiseerde medische diagnostiek, zijn ze veelal onvoldoende beschikbaar voor LMIC's. Dit terwijl er daar ook vele potentieel interessante toepassingen lijken te zijn. Door het gebruiken van een aangepaste versie van het technologie gereedheidsniveau (TRL) inschalingsstelsel in combinatie met de Target Product Profile (TPP) van de WHO en een inventarisatie van context-specifieke behoeften is aangetoond dat de meerderheid van de DODD's nog niet klaar is voor implementatie in rurale gebieden in LMIC's. De voorwaarden die worden gesteld in de TPPs blijken daarbij een significant struikelblok te vormen, vooral als het gaat om verdere validatie in de praktijk (TRL 5, 6, en 7). Dit geeft tevens aan hoe belangrijk het is dat er meer onderzoek wordt uitgevoerd binnen endemische gebieden naar de ontwikkeling en validatie van dergelijke apparaten.

In de afgelopen jaren zijn er op initiatief van Technische Universiteit Delft twee opmerkelijke AI-gestuurde DODD's ontwikkeld voor het diagnosticeren van schistosomiasis, STH-infecties en andere parasitaire infecties, genaamd de Schistoscope en de AiDx Assist. Beide apparaten zijn voorzien van speciaal ontworpen optische bright-field verlichtingssysteem en bewegingssystemen, maar verschillen in enkele elektronische en computer-gerelateerde componenten, waaronder het gebruikte AI-framework. In dit proefschrift wordt beschreven hoe diverse preklinische en in-het-veld validatie studies zijn uitgevoerd waarbij verschillende ontwikkelingsstadia van deze twee apparaten onder verschillende veldomstandigheden zijn toegepast.

De voornaamste doelstelling van het onderzoek beschreven in dit proefschrift is om de diagnostische prestaties van de Schistoscope en AiDx Assist te valideren als een optische detectiemethode op basis van de morfologie van de eieren en/of larven en daarmee de diagnostiek van schistosomiasis, STH's en loiasis te vereenvoudigen, in zowel preklinische als in-het-veld studies in verschillende endemische gebieden in Afrika. **Hoofdstuk 1** is een algemene inleiding waarbij een overzicht wordt gegeven van het proefschrift. Ook worden de specifieke

uitdagingen belicht die duidelijk zijn geworden bij het ontwikkelen van DODD's en wordt beschreven welke ontwikkeling hebben geleid tot commercialisering van DODD's als morfologie-gebaseerde parasietdetectiemethoden. **Hoofdstuk 2** richt zich op het in kaart brengen van de context-specifieke behoeften voor verschillende diagnostische methoden voor schistosomiasis. Hierbij wordt omschreven wat de diagnostische beperkingen zijn van de urine POC-CCA- en haematurie-sneltesten in een gemeenschap in Tanzania waar twee verschillende *Schistosoma* soorten tegelijkertijd (zowel *S. haematobium* als *S. mansoni*) voorkomen. Ook wordt beargumenteerd dat in specifieke endemische gebieden ei-gebaseerde optische detectiemethoden noodzakelijk zijn om de prevalentie van *Schistosoma* soorten nauwkeuriger in kaart te brengen.

Hoofdstuk 3 beschrijft een in Nigeria uitgevoerde evaluatie waarbij voor het detecteren en kwantificeren van *S. haematobium* eieren in urine de prestatie van de Schistoscope wordt vergeleken met traditionele microscopie. Hierbij is er ook nog een onderscheid gemaakt tussen een semi-geautomatiseerd systeem en een volledig geautomatiseerde digitale microscoop met AI-algoritmen. Uit deze studie blijkt de gevoeligheid van de semi- en volledig-geautomatiseerde modus van de Schistoscope vergelijkbaar met die van traditionele microscopie. Echter, de specificiteit van de volledig-geautomatiseerde Schistoscope was significant lager dan die van traditionele microscopie. Bij de volledig-geautomatiseerde Schistoscope werd bij een hoge ei-uitscheiding ook het aantal eieren in de telling onderschat door het AI-algoritme. In **Hoofdstuk 4** wordt een verbetering van het AI-algoritme van de Schistoscope beschreven door middel van een twee-staps geautomatiseerd diagnosekader voor het detecteren en kwantificeren van *S. haematobium* eieren en deze werd gevalideerd met behulp van microscopieopnames verzameld in een endemische populatie. Het nieuwe AI-algoritme resulteerde in een betere prestatie op het gebied van gevoeligheid en specificiteit, maar verdere validatie in het veld was nog noodzakelijk. Dit wordt vervolgens beschreven in **Hoofdstuk 5**. Hier wordt de prestatie van de Schistoscope beschreven, uitgevoerd in Lambaréné, Gabon, waarbij niet alleen een vergelijking werd gemaakt de traditionele microscopie uitgevoerd op verse urine monsters, maar ook op urinefilters die enkele maanden tot jaren werden opgeslagen. In de vergelijking werd ook gebruik gemaakt van een samengestelde en meer gevoelige referentie waarin additionele diagnostische testen werden meegenomen zoals een urine-gebaseerde real-time PCR en de UCP-LF-CAA test.

Hoofdstuk 6 richt zich op de validatie van de AiDx Assist digitale microscoop als diagnostisch hulpmiddel voor *Schistosoma* spp in urine en ontlasting onder veldomstandigheden in Nigeria, waarbij ook is gekeken naar de diagnostische mogelijkheden voor het detecteren van andere soorten worminfecties. De AiDx Assist bleek te voldoen aan de door de WHO opgestelde TPP met betrekking tot de diagnostische prestatie voor *S. haematobium* ei-detectie in urine. Echter, voor de detectie van *S. mansoni*-eieren in ontlasting bleek de prestatie nog onvoldoende en is een verdere optimalisatie nodig. **Hoofdstuk 7** bespreekt de samenhang van de onderzoeksresultaten binnen dit proefschrift. Ook wordt nog aandacht besteed aan een serie niet gepubliceerde gegevens van de AiDx Assist waarbij onder veldomstandigheden 514 Giemsa gekleurde dikke druppel preparaten zijn geanalyseerd op de kwantitatieve aanwezigheid van *Loa loa* microfilaria. In dit hoofdstuk benadrukken we de vooruitgang die de laatste jaren is geboekt in de ontwikkeling van DODD's. Dit is niet alleen op het gebied van de technische diagnostische karakteristieken. Er wordt namelijk ook steeds meer rekening gehouden met de context-

specifieke behoefte, wat zijn weerslag heeft in de operationele en logistieke eigenschappen van de apparaten. Dit komt de toepasbaarheid van DODD's in LMIC's ten goede, niet alleen voor de diagnostiek van schistosomiasis, STH infecties en filariasis, maar ook van andere infectieuze en niet-infectieuze ziekten.

De ontwikkeling van de Schistoscope en de AiDx Assist laten zien dat er belangrijke vooruitgang is geboekt in de diagnose van NTD's. Deze apparaten bieden een eenvoudig en mobiele oplossing voor het aantonen van ziekten zoals schistosomiasis, STH infecties en filariasis, waar traditionele microscopische methoden veelal tekortschieten. Beide apparaten hebben laten zien onder veldomstandigheden uitstekend te kunnen presteren en ondanks het feit dat ze nog enkele beperkingen hebben, zijn ze in potentie geschikt voor verdere integratie in nationale controleprogramma's voor NTD's in LMIC's. DODD's kunnen relevante veranderingen teweegbrengen in de uitvoering en monitoring van dergelijke programma's. Toekomstig onderzoek zou zich vooral moeten richten op het uitvoeren van grondige kosten-batenanalyses, om daarmee verdere integratie in grootschalige bevolkingsonderzoeken te ondersteunen en de apparaten in het bijzonder voor LMIC's geschikt te maken. Daarnaast zou toekomstig onderzoek aandacht moeten besteden aan een verdere verbetering van de prestatie en toepasbaarheid van de DODD's, maar dit zou zoveel mogelijk moeten gebeuren op een gestandaardiseerde wijze en op geleide van een aangepaste TRL-schaal om daarmee inzetbaarheid onder veldomstandigheden beter te garanderen. Uiteindelijk kan een succesvolle implementatie van DODD's van grote invloed zijn op het efficiënt bestrijden, en zelfs elimineren, van NTD's in endemische gebieden.