

**BSP Trypanosomiasis and Leishmaniasis seminar,
Ceske Budejovice, Tsjechië August 27- 30, 2004.**

Wendy van der Meide, Afdeling Parasitologie, KIT Biomedical Research

Dit jaar organiseerde The British Society for Parasitology het 'Trypanosomiasis and Leishmaniasis seminar' in een mooi stadje met de ingewikkelde naam Ceske Budejovice in Tsjechië. De organisatie lag grotendeels in de handen van een man; Julius Lukes en alhoewel dit pas mijn tweede congresbezoek was, kon ik aan alle reacties merken dat hij het congres uitzonderlijk goed had georganiseerd.

Het overgrote deel van het congres was geconcentreerd op trypanosomen, maar dit vond ik geen tekortkoming omdat ik een maand eerder al het congres (European Multicolloquium of Parasitology, EMOP-IV) in Valencia had bezocht en daar veel nadruk op *Leishmania* had gelegen. Veel van de voordrachten die gegeven werden gingen met name over de biochemie, het genoom en 'proteomics' van de Trypanosoom parasiet, en wat mij opviel was dat de RNAi techniek bijzonder veel werd toegepast. Ik merkte dat de aanpak van een onderzoek heel verschillend kan zijn om dezelfde vraagstelling te beantwoorden, en vervolgens ook de conclusies die getrokken worden. Bijvoorbeeld, in een onderzoek bevestigde men dat het ApoL-I eiwit de factor in humane serum is wat lysis van trypanosomen veroorzaakt, terwijl in een ander onderzoek met een geheel andere aanpak ditzelfde eiwit niet essentieel is voor deze lysis functie. De onderwerpen waar mijn eigen interesse naar uitging waren de praatjes over populatie genetica van de *Leishmania* parasiet waarbij tegenwoordig gebruik gemaakt wordt van 'microsatellite analysis' en de sessies over resistentie mechanismen van parasieten tegen bepaalde medicijnen. Deze informatie kan gebruikt worden om bijvoorbeeld een snelle diagnostische test op te zetten om drug resistente parasieten bij patiënten aan te tonen, zoals voor trypanosomen was gedaan. Een dergelijke test is belangrijk voor de therapeutische keuzes die gemaakt moeten worden. Dit onderwerp spreekt mij aan omdat ik zelf aan een diagnostische test werk die van belang is voor het evalueren van huidige behandelingschema's voor *Leishmania* patiënten.

In mijn presentatie ben ik voor een groot gedeelte ingegaan op de moleculaire techniek (QT-NASBA) waarmee we *Leishmania* parasieten in patiënten materiaal kunnen detecteren en kwantificeren. Deze methode is gebaseerd op de amplificatie van RNA moleculen (in tegenstelling tot de PCR, welke DNA amplificeert), en daarom zou deze test informatie kunnen geven over de viability van de parasiet, omdat RNA veel sneller wordt afgebroken dan DNA. Daarom worden van patiënten van het AMC met cutane leishmaniasis voor, tijdens en na hun behandeling huidbiopten verzameld en zowel in de PCR als de QT-NASBA geanalyseerd. Vier patiënten zijn reeds geïncubeerd, waarbij ik van een patiënt foto's van de laesie met de bijbehorende data heb laten zien. De QT-NASBA wordt op dit moment geëvalueerd aan de hand van *in vitro* kweken van de parasiet en huidbiopten, die zowel in het AMC zijn verzameld als in endemische gebieden.

Kort samengevat vond ik dit congres zeer leerzaam, en goed georganiseerd, met een leuk, afwisselend programma en vond ik de reacties op mijn presentatie erg stimulerend.

Quantitative Nucleic Acid Sequence-Based Amplification assay as a new diagnostic tool to detect and quantify *Leishmania* parasites.

*Wendy van der Meide*¹, *Gerard Schoone*¹, *Peter de Vries*², *William Faber*², *Henk Schallig*¹

(¹Royal Tropical Institute, Amsterdam, The Netherlands, ²Academic Medical Centre, Amsterdam, The Netherlands).

A Quantitative Nucleic Acid Sequence-Based Amplification (QT-NASBA) assay was developed and evaluated for the detection and quantification of *Leishmania* parasites in skin biopsies or blood samples of patients with confirmed cutaneous (CL) or visceral leishmaniasis (VL), respectively. The assay is based on the detection of small subunit ribosomal RNA (18S rRNA). Quantification is achieved by co-amplification of the RNA in the sample with modified *in vitro* RNA as competitor in a single-tube NASBA reaction. The sensitivity of the

NASBA was optimised using living, in vitro cultured *Leishmania* promastigotes and amastigotes in a human immortal macrophage cell line (U937). The lowest detection limit of the QT-NASBA assay is around 1 parasite in a clinical sample. Performance of QT-NASBA is currently evaluated in comparison with standard diagnostic protocols employed at the Academic Medical Centre.

Work supported by The Netherlands Foundation for the Advancement of Tropical Research (W96-210).