

LymeSpot - EliSpot

Nachweisverfahren von durch Borrelien aktivierte T-Zellen

Einführung

Die Lyme-Borreliose ist in Europa und den USA die bedeutendste zeckenübertragene Infektionskrankheit mit zum Teil schwerwiegenden Verläufen.

Neben den klinischen Kriterien für eine Diagnose der Borreliose kommen zur labormedizinischen Abklärung verschiedene serologische Erreger-Nachweisverfahren, wie z.B. ELISA, ImmunoBlot oder IFT zum Einsatz.

Der **EliSpot Assay** (*Enzyme-Linked-Immuno-Spot-Assay*) dient zum Nachweis sezernerter Zytokine, die von einzelnen Immunzellen nach Stimulation mit Antigenen sezerniert und an einer Membran immobilisiert werden.

Bei diesen Immunzellen handelt es sich um **antigenspezifische T-Zellen**; der EliSpot ist ein einzelzellbasiertes Testverfahren und misst direkt die Anzahl der aktivierten T-Zellen aufgrund ihrer Zytokinausschüttung.

Daher stellt der Elispot eine hoch spezifische Methode mit einer hohen Sensitivität dar und wird seit langem in der Impfstoffentwicklung als Goldstandard eingesetzt. Weitere Anwendung findet er mit der Überwachung des Immunstatus nach Transplantationen, Verlaufskontrollen der Immunreaktion in Folge von Immunisierungen, Desensibilisierungen, chronischen Infektionen und Tumorerkrankungen.

In der Routine-Diagnostik hat sich der EliSpot als Methode der Wahl zur Abgrenzung latenter Tuberkulose-Infektionen etabliert.

T-Zellen / Zytokine

Eine **EliSpot T-Zell-Diagnostik** mit dem Nachweis der **Interferon-gamma**-Freisetzung, aber auch weiteren Zytokinen, wie z.B. **Interleukin 2**, kann wichtige Informationen zur Einschätzung der Aktivität einer chronischen Borreliose liefern.

Die zelluläre Immunantwort ist T-Zell (T-Lymphozyten) abhängig. Die Unterteilung der T-Lymphozyten erfolgt zum Einen in zytotoxische T-Zellen (CD8) und zum Anderen in T-Helferzellen (CD4). Die T-Helferzellen (TH) werden in TH-1, TH-2 und TH-17 sowie in regulatorische T-Zellen eingeteilt. Die TH-Zellen sind durch ihre unterschiedliche Zytokinproduktion charakterisiert. So produzieren TH-1 Zellen proinflammatorische Zytokine.

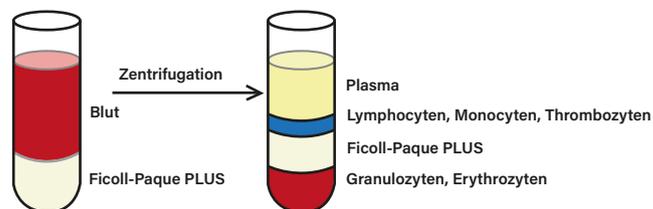
Diese Zytokine lassen sich mit Hilfe von sog. *Capture Antikörpern* „einfangen“ und im ELISA-Prinzip mittels enzym-markierter Antikörper durch Enzym-Substrat-Reaktion detektieren.

Zertifiziertes Verfahren

Der LymeSpot ist der einzige zytokinbasierte T-Zelltest, der explizit für die Diagnostik von Infektionen mit Borrelien zertifiziert ist. Die Zertifizierungsunterlagen finden Sie auf www.europarclabor.com.

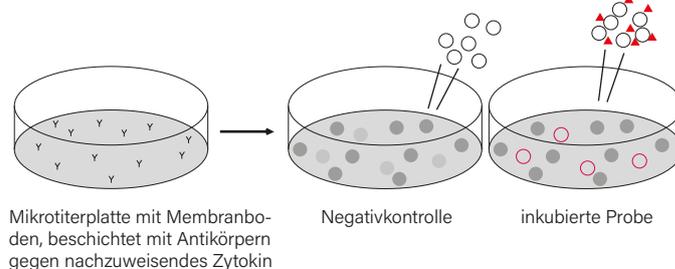
Testprinzip des LymeSpots

Isolation der Lymphozyten mittels Ficoll-Paque™-Zentrifugationsmedium.

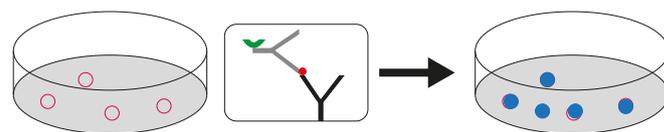


→ Zellsuspension wird mit Antigen / Mitogen 18 - 24h bei 37°C inkubiert.

Zuvor aktivierte T-Zellen setzen Zytokine ▲ frei, die durch die Antikörper an die Membran gebunden werden:



Nach der Inkubation werden die Zellen von der Platte entfernt. Nach Zugabe von enzymmarkierten Antikörpern und weiterer Inkubation erfolgt durch die Zugabe des Substrates die Entwicklung der Spots:



Vorteile des LymeSpots

- Hohe Sensitivität bei der Messung der Zytokinabgabe antigenspezifischer T-Zellen
- Messung unterschiedlicher Zytokine und/oder Antigene möglich - einzeln (enzymatisch) oder parallel (fluoreszenzbasiert)
- Automatisierbarkeit der Abläufe, Auswertung und Interpretation

Indikationen

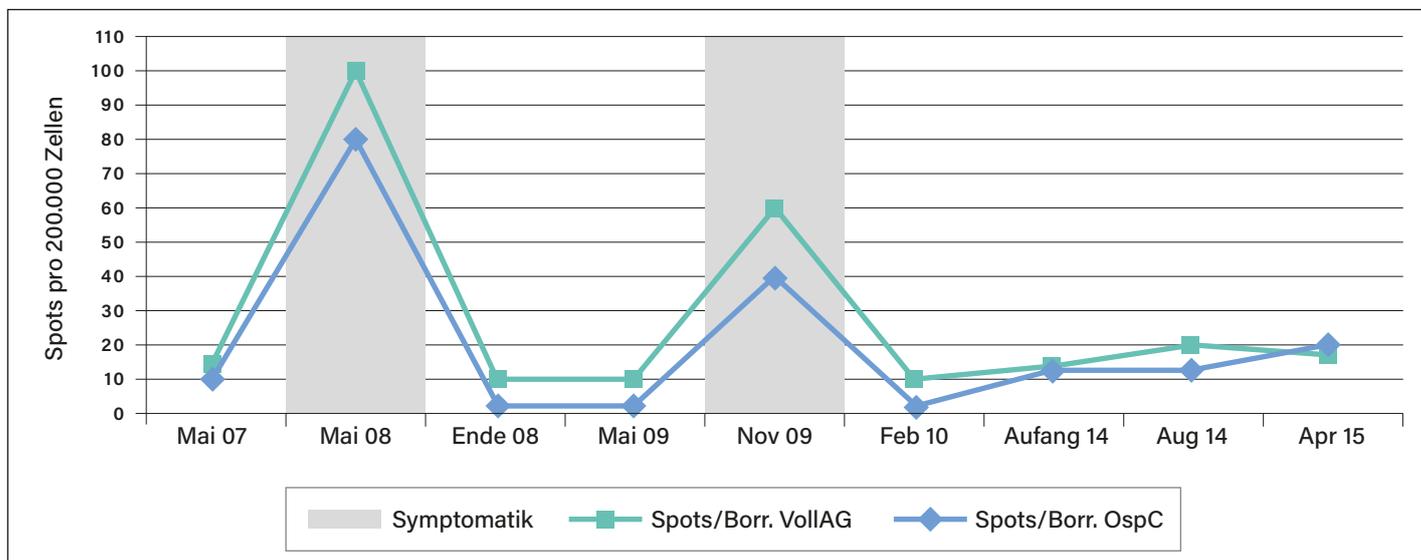
- Unspezifisches Krankheitsbild in Verbindung mit unklarer Serologie
- **Therapieüberwachung/Verlaufskontrolle** nach Antibiotika- oder anderweitiger Therapie
- Bei persistierendem IgM-Antikörper
- Erkennung von Reaktivierungen der Infektion
- Borrelien-Ausschluss Diagnostik

Fallbeispiel:

Krankheitsverlauf eines Spenders

Datenquelle: www.aid-diagnostika.com

Verlaufsdaten eines Spenders



Grafik 1: Krankheitsverlauf mit LymeSpot-Daten eines Spenders

Datum	Spots/Borr. VollAG	Spots/Borr. OspC	Bemerkung
Mai 07	15	10	unauffällig
Mai 08	100	80	vor Therapie mit klinischen Symptomen
Ende 08	10	2	3 Monate nach Therapie
Mai 09	10	2	keine klinischen Symptome
Nov 08	60	40	klinische Symptome
Feb 10	10	2	keine klinischen Symptome
Anfang 14	13	12	keine klinischen Symptome
Aug 14	19	12	leichte klinische Symptome
Apr 15	17	19	leichte klinische Symptome

Tabelle 1: Krankheitsverlauf mit LymeSpot-Daten eines Spenders

Bei diesem Spender handelt es sich um einen jüngeren Mann mit mehreren zurückliegenden Zeckenstichen ohne Erythema migrans.

Klinische Symptome: Z.T. starke Muskel- und Weichteilschmerzen sowie Taubheitsgefühle in den Extremitäten.

Serologie: Der Borrelien LineBlot IgG war über die gesamte Zeit gleichbleibend unauffällig.

Zum ersten Zeitpunkt der klinischen Symptome war die Spotzahl im EliSpot deutlich erhöht. Nach der Antibiotika-Therapie verschwanden die Symptome und die Spotzahl im EliSpot sank unter den Schwellenwert.

Zehn Monate traten erneut die gleichen klinischen Symptome auf, ebenfalls mit deutlich positivem EliSpot-Ergebnis. Interessanterweise verschwanden diesmal die Symptome ohne Therapie, der EliSpot ist seit der symptomfreien Zeit wieder negativ.

Kostenlose Blutentnahme-Kits für Arztpraxen

Die Bestellung von Blutentnahme-Kits ist kostenlos unter Tel. **+49 (0) 33203 879 420** oder E-Mail info@europarclabor.com oder www.europarclabor.com/blutentnahme-kit-bestellung

Anforderungsbogen download

<https://www.europarclabor.com/downloads>

Material

2 x **ACD/CPDA Röhrchen**

Wichtig: Der Transport ins Labor ist zeitkritisch und muss über unsere Express Abholung erfolgen.

Abrechnung

Eine Abrechnung ist nur im privatärztlichen Bereich (GOÄ) gegeben. Kosten für Selbstzahler:

LymeSpot 141,41 €
Borr. burgd. Vollantigen + OspMix + LFA-1

Ansprechpartner und Beratung

Stefan Widdowson
info@europarclabor.com

Medizinische Leitung: **Dr. med. Anton Waldherr**