LABORATORIUM
CENTRUM MEDYCZNE
WIELKOSZYŃSKI

Przewodnik po testach
EliSpot

Autor: Dr hab. n. med. Tomasz Wielkoszyński
Lekarz – specjalista diagnostyki laboratoryjnej

- ✓ Zastosowanie testów
- ✓ Interpretacja wyników
- ✓ Przykładowe wyniki

Spis treści

Informacje ogólne 3
Wskazania do wykonania testów EliSpot 4
Zalecane środki ostrożności przy wykonywaniu testów EliSpot 4
EliSpot 2 Borrelia 5
Przykłady interpretacji wyników testu EliSpot 2 Borrelia 6
EliSpot Bartonella henselae, Babesia microti, Anaplasma/Ehrlichia 8
EliSpot Borrelia miyamotoi 9
EliSpot Yersinia 10
EliSpot Chlamydia pneumoniae i Chlamydia trachomatis 11
EliSpot Mycoplasma pneumoniae 11
EliSpot Aspergillus 12
EliSpot Candida 13
EliSpot CMV 13
EliSpot EBV 14
EliSpot HSV-1 i HSV-2 16
EliSpot VZV 16
Piśmiennictwo: 18

Informacje ogólne

Testy EliSpot to badania oceniające odpowiedź komórkową poprzez wykrywanie specyficznych limfocytów T efektorowych, weryfikują aktywność zakażenia. W przeciwieństwie do badań serologicznych, których wyniki mogą pozostawać dodatnie przez wiele miesięcy, a nawet lat po wygaszeniu aktywności zakażenia (np. zjawisko przetrwałej produkcji specyficznych przeciwciał IgM w boreliozie lub wieloletnie, dodatnie wyniki w klasie IgG), **testy EliSpot oceniają aktualną sytuację immunologiczną organizmu, a więc aktywność zakażenia.**

W przypadkach defektów odpowiedzi humoralnej (np. niedoborów immunoglobulin) testy komórkowe, w tym testy EliSpot, mogą dostarczać nieocenionych informacji diagnostycznych, pozwalając na postawienie właściwego rozpoznania i podjęcie leczenia przyczynowego.

Metoda EliSpot pozwala więc na ocenę aktualnego statusu zakażenia (aktywne czy nieaktywne) i umożliwia planowanie dalszych etapów leczenia lub jego zaniechanie.

W testach EliSpot wykonywanych w CMW wprowadziliśmy dodatkową kontrolę prawidłowości wykonania badania – **pozytywną kontrolę z mitogenem szkarłatki (PWM)**. PMW jest to lektyna (glikoproteina pochodzenia roślinnego), która w sposób niespecyficzny aktywuje limfocyty T do proliferacji i produkcji cytokin, m.in. interferonu gamma. Wykonanie tej kontroli pozwala ocenić stan funkcjonalny limfocytów T użytych do badania, czyli czy są to komórki żywe i czy w ogóle są zdolne do aktywacji. Ujemny wynik uzyskany dla kontroli dodatniej wskazuje na osłabione lub martwe limfocyty użyte w badaniu (np. nieprawidłowe warunki transportu, zbyt dugi czas przechowywania krwi), jest więc dodatkowym zabezpieczeniem prawidłowości wykonania badania i ważnym elementem interpretacji ostatecznego wyniku.
Do jego prawidłowej interpretacji indeks stymulacji dla mitogenu (kontroli pozytywnej) powinien wynosić powyżej 8. Wartości niższe wskazują na zły stan funkcjonalny limfocytów i nakazują daleko posuniętą ostrożność w interpretacji wyników, zwłaszcza wyników ujemnych.

Ponieważ w niektórych testach stosowane są antygeny natywne (antygeny uzyskiwane z hodowanych patogenów, czyli tzw. lizaty krętków), istnieje realna możliwość uzyskiwania dla tych antygenów reakcji fałszywie dodatnich. Ryzyko to związane jest z obecnością w stosowanych preparatach antygenowych (lizatach) niespecyficznych antygenów (np. białek szoku cieplnego – HSP). Zabezpieczeniem przed ryzykiem uzyskania wyników fałszywie dodatnich jest stosowanie do stymulacji limfocytów antygenów rekombinowanych, peptydowych lub wysokooczyszczonych antygenów natywnych. Dlatego też z dużą ostrożnością należy interpretować wyniki badania w kierunku boreliozy uzyskane dla lizatu pełnych bakterii (np. krętków Borrelia s.s. B31), przy ujemnych wynikach dla pozostałych, rekombinowanych antygenów.

Dodatkowym źródłem wyników fałszywie dodatnich związanych ze stosowaniem antygenów natywnych (izolowanych z żywych mikroorganizmów, w szczególności bakterii gram-ujemnych) są lipopolisacharydy (LPS). LPS-y są ogólnie znanymi czynnikami nieswoiście aktywującymi limfocyty. Aktywacja drogą TLR4 zachodzi nawet, jeśli LPS pochodzi od niepatogennego gatunku bakterii (np. *E. coli*). Dla uniknięcia tego zjawiska, wprowadziliśmy dodatkowe zabezpieczenie przed obecnością lipopolisacharydów w preparatach antygenowych, poprzez dodatek do medium hodowlanego związku inaktywującego LPS-y. Obecność inaktywatora LPS powoduje, że wyniki testów EliSpot stają się bardziej specyficzne i nie są obarczone ryzykiem wyniku fałszywie dodatniego spowodowanego przypadkową obecnością lipopolisacharydów bakteryjnych.

Wskazania do wykonania testów EliSpot

- ✓ Rutynowa diagnostyka choroby z Lyme, koinfekcji lub innego zakażenia. Badanie metodą EliSpot powinno być wykonane równolegle z badaniami serologicznymi, a wyniki obu testów interpretowane łącznie z obrazem klinicznym.
- ✓ Diagnostyka boreliozy lub innego zakażenia u pacjentów seronegatywnych (tj. u takich, u których wyniki testów serologicznych nie pozwalają na rozpoznanie zakażenia i pozostają ujemne).
- ✓ Diagnostyka boreliozy lub innego zakażenia u pacjentów z nierozstrzygającymi wynikami badań serologicznych (np. powtarzalnie granicznymi wynikami testów immunoblot lub IgG-pozytywnymi i IgM-negatywnymi), u których na podstawie obrazu klinicznego podejrzewane jest aktywne zakażenie.
- ✓ Diagnostyka boreliozy lub innego zakażenia u pacjentów z niedoborami immunoglobulin (niedoborem IgG lub podklas IgG).
- ✓ Diagnostyka boreliozy lub innej infekcji u pacjentów leczonych preparatami immunoglobulin ludzkich (preparaty IVIG mogą prowadzić do uzyskiwania fałszywie dodatnich wyników testów serologicznych, szczególnie w klasie IgG).
- ✓ Kontrolę skuteczności leczenia antybiotykowego lub naturalnego (badanie EliSpot można wykonać po ok. 6 tygodniach od zakończenia antybiotykoterapii).

Zalecane środki ostrożności przy wykonywaniu testów EliSpot

- ✓ **Obecnie prowadzona antybiotykoterapia;**

  Ze względu na dynamicznie przebiegające procesy immunologiczne towarzyszące antybiotykoterapii (zwłaszcza jej początkowym etapom), zaleca się wykonywanie badań metodą EliSpot po co najmniej 6 tygodniach od zakończenia leczenia. Czas ten pozwala na uzyskanie „stabilizacji immunologicznej", a uzyskany wynik w rzeczywistości odzwierciedla aktualny stan pacjenta. Same antybiotyki (w sensie biochemicznym i immunologicznym) nie przeszkadzają w wykonaniu testów EliSpot. Teoretycznie można więc wykonać badania w trakcie leczenia. Należy jednak pamiętać, że ze względu na dynamiczne zmiany w układzie odpornościowym zachodzące podczas leczenia, uzyskany wynik może nie odzwierciedlać statusu immunologicznego, jaki uzyskamy po zakończeniu leczenia.

- ✓ **Stosowanie glikokortykoidów i innych leków immunosupresyjnych;**

  Ze względu na immunosupresyjny wpływ tych leków należy liczyć się z możliwością uzyskania wyników fałszywie ujemnych. Jeśli jest to krótki cykl leczenia, to warto odczekać ok. 6-8 tygodni od zakończenia leczenia. W przypadkach stałej sterydoterapii i braku możliwości jej przerwania, badania wykonujemy w jej trakcie, pamiętając jednak o zwiększonym ryzyku uzyskania wyniku fałszywie ujemnego.

- ✓ **Niesteroidowe leki przeciwzapalne (NLPZ);**

  Długotrwałe stosowanie NLPZ może hamować reakcje zapalne, w których uczestniczą limfocyty T oraz ich odpowiedź na antygeny w testach EliSpot. Dotyczy to w szczególności reakcji z antygenem LFA-1. Dlatego wskazane jest przerwanie leczenia i wykonanie badania po 6 tygodniach. Uwaga ta nie dotyczy pojedynczych dawek NLPZ stosowanych sporadycznie (doraźnie).

EliSpot 2 Borrelia

Kluczową sprawą w diagnostyce boreliozy z Lyme jest zapewnienie wysokiej specyficzności wyniku testu EliSpot. W tym celu modyfikacji uległ dotychczas wykonywany test EliSpot. Wprowadziliśmy do niego dodatkowe i wysokospecyficzne antygeny krętkowe. Obecnie oferowany test EliSpot 2 Borrelia ocenia reakcje dla następujących antygenów krętka *Borrelia burgdorferi*:

Antygen	Pochodzenie	Znaczenie kliniczne antygenu
Lizat ***B. burgdorferi***	**Hodowlany szczep B31 *B. burgdorferi sensu stricto***	Lizat z założenia powinien zawierać pełne spektrum antygenowe krętka *B. burgdorferi*. Opisywano jednak różnice w sekwencji antygenów różnych genogatunków i szczepów, a więc różną reaktywność immunologiczną. Ze względu na zawartość antygenów niespecyficznych (np. p41 i HSP) występuje tu dość wysokie ryzyko reakcji fałszywie dodatnich. W przypadku uzyskania pozytywnej reakcji dla tego antygenu, przy ujemnych reakcjach dla antygenów specyficznych, wskazana jest duża ostrożność w interpretacji ostatecznego wyniku (duże prawdopodobieństwo uzyskania wyniku fałszywie dodatniego). Ze względu na mniejszą specyficzność reakcji z lizatem B31 wyższa jest wartość indeksu stymulacji dla tego antygenu, przy której oceniamy wynik jako dodatni (wyniki dodatnie przy IS powyżej 4).
OspC mix	**Mieszanina rekombinowanych białek OspC 3 genogatunków krętka: *B. burgdorferi sensu stricto, B. afzelii i B. garinii.***	Antygeny OspC są jednymi z najważniejszych antygenów specyficznych dla krętka *B. burgdorferi*. W badaniach serologicznych reakcja z OspC występuje najczęściej w klasie IgM i odzwierciedla aktywną fazę infekcji. W teście EliSpot do stymulacji limfocytów wykorzystano antygeny OspC pochodzące z 3 najważniejszych genogatunków krętka, co pozwala wyeliminować ryzyko reakcji fałszywie ujemnych związanych z różnicami w immunoreaktywności i antygenowości białek pochodzących od poszczególnych genogatunków krętka (w przypadku zastosowania tylko jednego z antygenów do stymulacji limfocytów). Reakcja z OspC mix jest specyficzna dla boreliozy z Lyme.
VlsE mix	**Mieszanina rekombinowanych białek VlsE 3 genogatunków krętka: *B. burgdorferi sensu stricto, B. afzelii i B. garinii.***	Antygen VlsE jest wysokospecyficznym białkiem krętków. Jego ekspresja zachodzi tylko *in vivo*, tj. w organizmie ssaka (w temp. ok. 37 st. C). Swoista odpowiedź immunologiczna wobec VlsE może pojawiać się już we wczesnych etapach zakażenia, ale najczęściej obserwowana jest w boreliozie późnej. Pomimo, że białko VlsE jest wysoce konserwatywne, w teście EliSpot do stymulacji limfocytów wykorzystano antygeny VlsE pochodzące z 3 najważniejszych genogatunków krętka, co pozwala wyeliminować ryzyko reakcji fałszywie ujemnych związanych z różnicami w immunoreaktywności i antygenowości białek pochodzących od poszczególnych genogatunków krętka (w przypadku zastosowania tylko jednego z antygenów do stymulacji limfocytów). Reakcja z VlsE mix jest wyjątkowo specyficzna dla boreliozy z Lyme.
OspA	**OspA *B. afzelii***	OspA jest specyficznym antygenem krętka Borrelia burgdorferi. Reakcja z białkiem OspA charakterystyczna jest dla późnych etapów zakażenia. Wiązana jest ona również z występowaniem objawów stawowych (reaktywne zapalenia stawów, antybiotykooporna postać stawowa boreliozy). Wystąpienie dodatnich wyników (IS>3) w teście EliSpot predysponuje pacjenta do przedłużających się i lekoopornych reakcji stawowych.

Antygen	Pochodzenie	Znaczenie kliniczne antygenu
p41i	**Wewnętrzny fragment flageliny (p41)** ***B. burgdorferi***	Białko p41i (w przeciwieństwie do pełnej cząsteczki antygenu p41) uważane jest za specyficzny antygen Borrelia burgdorferi. Reakcja z p41i pojawia się jako jedna z pierwszych w przebiegu zakażenia (łącznie z reakcją z antygenem OspC). Uwaga: reakcja z białkiem p41 (pełną cząsteczką antygenu) jest reakcją niespecyficzną i nie powinna być brana pod uwagę przy interpretacji wyników. Natomiast reakcja z antygenem p41i jest bardzo swoista i może służyć jako specyficzny wskaźnik zakażenia.
LFA-1	**Peptyd LFA-1**	Białko LFA-1 jest autoantygenem wiążącym reakcję z antygenem OspA z przetrwałą i lekooporną postacią stawową boreliozy z Lyme. Predyspozycja do tych reakcji wynika również z obecności mutacji MHC II (obecny allel HLA DRB1*0401). Pozytywna reakcja z LFA-1 w teście EliSpot 2 Borrelia powinna skłaniać do poszerzenia diagnostyki w kierunku chorób autoimmunologicznych (RF, ANA, anty-CCP, ANCA, itp.).

Przykłady interpretacji wyników testu EliSpot 2 Borrelia

Przykład nr 1

Antygen	Indeks stymulacji (SI)
Borrelia B31 lizat	1,5
OspC mix	1,0
VlsE mix	1,1
OspA	1,5
p41i	1,8
LFA-1	1,0
Kontrola pozytywna (PWM)	120,0

Interpretacja:

Wynik ujemny – brak pozytywnych reakcji dla antygenów krętkowych; obecna reakcja z PWM (kontrola pozytywna).

Przykład nr 2

Antygen	Indeks stymulacji (SI)
Borrelia B31 lizat	1,5
OspC mix	1,0
VlsE mix	1,1
OspA	1,5
p41i	1,8
LFA-1	1,0
Kontrola pozytywna (PWM)	3,0

Interpretacja:

Wynik niediagnostyczny – pomimo uzyskania ujemnych reakcji dla antygenów krętkowych, uzyskano niskie wartości kontroli pozytywnej (PWM), co dowodzi złego stanu funkcjonalnego limfocytów użytych do badania. Konieczne powtórzenie badania z nowej próbki.

Przykład nr 3

Antygen	Indeks stymulacji (SI)
Borrelia B31 lizat	14,2
OspC mix	5,9
VlsE mix	10,2
OspA	2,1
p41i	6,0
LFA-1	1,0
Kontrola pozytywna (PWM)	69,0

Interpretacja:

Wynik dodatni – stwierdzono obecność pozytywnych reakcji dla lizatu B31 oraz większości antygenów specyficznych (dla oceny wyniku jako dodatniego wystarczająca jest reakcja z co najmniej jednym antygenem specyficznym: OspC mix, VlsE mix, OspA lub p41i). Brak reakcji z antygenami OspA i LFA-1 wskazuje na względnie niskie ryzyko przewlekłej reakcji autoimmunologicznej zapoczątkowanej przez krętki. Pozytywny wynik dla PWM (kontrola pozytywna) dowodzi dobrego stanu funkcjonalnego limfocytów.

Przykład nr 4

Antygen	Indeks stymulacji (SI)
Borrelia B31 lizat	25,4
OspC mix	1,2
VlsE mix	1,0
OspA	1,5
p41i	1,0
LFA-1	1,0
Kontrola pozytywna (PWM)	200,0

Interpretacja:

Wynik prawdopodobnie fałszywie dodatni – pozytywną odpowiedź uzyskano tylko dla lizatu krętków B31. Dla antygenów specyficznych OspC mix, VlsE mix, OspA i p41i uzyskano niskie indeksy stymulacji, co praktycznie zaprzecza aktywnej boreliozie z Lyme. Ze względu na obecność antygenów niespecyficznych w lizacie B31 należy reakcję z nim interpretować bardzo ostrożnie.

Przykład nr 5

Antygen	Indeks stymulacji (SI)
Borrelia B31 lizat	11,5
OspC mix	5,9
VlsE mix	1,1
OspA	8,5
p41i	6,0
LFA-1	7,8
Kontrola pozytywna (PWM)	185,0

Interpretacja:

Wynik dodatni – poza występowaniem dodatnich reakcji dla lizatu B31 i antygenów specyficznych (poza VlsE mix) stwierdzono pozytywne wartości IS dla antygenów OspA i LFA-1, co predysponuje pacjenta do wystąpienia przewlekłej, lekoopornej reakcji stawowej w boreliozie. Wskazane poszerzenie diagnostyki o wskaźniki reakcji autoimmunologicznych (RF, ANA, ANCA, anty-CCP, itp.).

EliSpot Bartonella henselae, Babesia microti, Anaplasma/Ehrlichia

W powyższych testach EliSpot wykorzystano antygeny rekombinowane patogenów przenoszonych przez kleszcze. Pozwala to, podobnie jak w teście EliSpot 2 Borrelia, na wyeliminowanie ryzyka reakcji fałszywie dodatnich związanych z obecnością w preparatach antygenowych białek (antygenów) nieswoiście aktywujących limfocyty (np. białek szoku cieplnego czy lipopolisacharydów bakteryjnych).

Antygeny stosowane w testach EliSpot do diagnostyki i oceny aktywności zakażeń wywoływanych przez *Bartonella henselae, Babesia microti i Anaplasma phagocytophilum (Ehrlichia phagocytophilum):*

Test EliSpot	Antygeny stosowane do stymulacji limfocytów
Bartonella henselae	Mieszanka trzech rekombinowanych antygenów białkowych *Bartonella henselae*
Babesia microti	Mieszanka trzech rekombinowanych antygenów białkowych *Babesia microti*
Anaplasma/Ehrlichia	Mieszanka trzech rekombinowanych antygenów białkowych *Anaplasma phagocytophilum*

Za wynik dodatni uważana jest wartość indeksu stymulacji (SI) powyżej 3 (aktywne zakażenie). Indeksy stymulacji w zakresie od 2 do 3 wskazują na możliwość aktywnego zakażenia (wynik graniczny).

Wyniki testu EliSpot	Wartości indeksów stymulacji (SI)
Ujemny	**Poniżej 2**
Graniczny (wątpliwy)	**Od 2 do 3**
Dodatni	**Powyżej 3**

W celu weryfikacji stanu funkcjonalnego (żywotności i zdolności do aktywacji) limfocytów pacjenta dla każdego testu EliSpot wykonywane jest badanie z mitogenem, tzw. kontrola dodatnia. Jako mitogen stosowana jest lektyna ze szkarłatki (PWM – Pokeweed mitogen) – związek, który nieswoiście pobudza limfocyty do proliferacji i wydzielania cytokin, m.in. interferonu gamma.

Dla prawidłowej interpretacji każdego testu EliSpot konieczne jest uzyskanie dodatnich wyników w kontroli z mitogenem. Stanowi to dowód na to, że w teście użyto żywych limfocytów, które charakteryzowały się pełną zdolnością do reakcji z antygenami.

Ze względu na bliskie pokrewieństwo innych gatunków bartonelli z *Bartonella henselae* nie można wykluczyć, że użyte w teście antygeny będą reagować krzyżowo z pozostałymi gatunkami należącymi do rodzaju *Bartonella*. Stąd praktycznie można przyjąć, że test EliSpot Bartonella wykrywa aktywne zakażenia Bartonella henselae, jak również pozostałymi gatunkami bartonelli.

Podobnie, ze względu na bliskie pokrewieństwo innych gatunków babesii z *Babesia microti* nie można wykluczyć, że antygeny użyte w teście będą reagować krzyżowo z pozostałymi gatunkami należącymi do rodzajów *Babesia* i *Theileria*. Stąd praktycznie można przyjąć, że test EliSpot Babesia wykrywa aktywne zakażenia *Babesia microti*, jak również pozostałymi gatunkami babesii.

Również pokrewieństwo genetyczne, a co za tym idzie antygenowe, pomiędzy *Anaplasma phagocytophilum* i *Ehrilchia chaffeensis* powoduje, że należy oczekiwać występowania reakcji krzyżowych pomiędzy tymi gatunkami.

EliSpot Borrelia miyamotoi

Borrelia miyamotoi jest patogenem przenoszonym przez kleszcze na terenie półkuli północnej i opisanym stosunkowo niedawno (1995). Zaliczana jest do grupy krętków powodujących gorączki powrotne, przenoszonych przez kleszcze (podobnie jak gatunki *B. hermsii*, *B, parkerii* i *B. duttonii*). W latach 2005 - 2011 opisano liczne przypadki występowania u ludzi zakażeń i współzakażeń tym patogenem. *B. miyamotoi* izolowano m.in. z krwi, tkanek i płynu mózgowo-rdzeniowego osób z objawami neuroboreliozy, gdzie występowała sama lub łącznie z *B. burgdorferi*. W 2016 opisano pierwszy przypadek tego zakażenia u pacjenta w Polsce.

Odsetek zakażonych kleszczy w Polsce i sąsiadujących krajach wynosi kilka procent. Zakażenie przenoszone jest transowarialnie i transstadialnie, a rezerwuarem jest mała i duża zwierzyna leśna (gryzonie, borsuki, jenoty, zającowate, ptaki i zwierzyna płowa). Odsetki serokonwersji wśród mieszkańców Europy (Holandia) wynosiły od 2% (dawcy krwi) do ok. 15% (leśnicy i osoby z boreliozą i/lub anaplazmozą granulocytarną), co dowodzi znacznego ryzyka zakażenia przy kontakcie z kleszczem.

Zakażenie *Borrelia miyamotoi* łączone jest więc z występowaniem objawów neurologicznych sugerujących boreliozę, w tym objawów zapalenia mózgu, opon mózgowo-rdzeniowych i zajęcia nerwów czaszkowych. Opisywano jednak również występowanie innych objawów spoza OUN, jak gorączka, dreszcze, zmęczenie, nudności i wymioty oraz bóle mięśniowo-stawowe. W obrazie badań laboratoryjnych może występować leukopenia, trombocytopenia oraz wzrost aktywności transaminaz.

Ze względu na znaczną różnicę filogenetyczną pomiędzy krętkami boreliozy (*Borrelia burgdorferi sensu lato*) i *Borrelia miyamotoi*, istnieją duże trudności w diagnostyce zakażeń tym ostatnim patogenem. Jest ono niewykrywalne przy zastosowaniu standardowych metod serologicznych stosowanych w boreliozie (ELISA i immunoblot). Dotychczas zastosowanie w diagnostyce zakażeń *B. miyamotoi* znalazły metody molekularne (np. PCR i rtPCR) i serologiczne, a także testy EliSpot. Podkreślić jednak należy, że jak dotąd nie opracowano komercyjnie dostępnych serologicznych testów diagnostycznych wykrywających te zakażenie.

Wychodząc naprzeciw potrzebom diagnostycznym CMW oferuje test EliSpot wykrywający zakażenia krętkiem *Borrelia miyamotoi*. Badanie może być szczególnie przydatne u pacjentów z objawami boreliozy i powtarzalnie ujemnymi wynikami testów serologicznych w kierunku zakażenia krętkiem *Borrelia burgdorferi s.l.* Jak podkreśla się w piśmiennictwie, z zakażeniem lub współzakażeniem (koinfekcja) krętkami z grupy gorączek powrotnych (w tym w szczególności *Borrelia miyamotoi*) należy liczyć się w przypadkach seronegatywnych neuroinfekcji (objawy sugerujące neuroboreliozę, przy ujemnych wynikach badań w kierunku zakażenia *Borrelia burgdorferi s.l.*).

Antygenem wykorzystanym do stymulacji limfocytów w teście EliSpot w kierunku zakażenia *Borrelia miyamotoi* jest swoista dla tego gatunku fosfodiesteraza glicerofosfodiestrowa (antygen GlpQ). Jest to białko niewystępujące u krętków należących do genogrupy *Borrelia burgdorferi sensu lato*. Stąd wyjątkowa specyficzność testu w wykrywaniu zakażeń powodowanych przez krętki z grupy gorączek powrotnych, w tym zakażenia *Borrelia miyamotoi*.

Za wynik dodatni uważana jest wartość indeksu stymulacji (SI) powyżej 3 (aktywne zakażenie). Indeksy stymulacji w zakresie od 2 do 3 wskazują na możliwość aktywnego zakażenia (wynik graniczny).

Wyniki testu EliSpot	Wartości indeksów stymulacji (SI)
Ujemny	**Poniżej 2**
Graniczny (wątpliwy)	**Od 2 do 3**
Dodatni	**Powyżej 3**

W celu weryfikacji stanu funkcjonalnego (żywotności i zdolności do aktywacji) limfocytów pacjenta dla każdego testu EliSpot wykonywane jest badanie z mitogenem, tzw. kontrola dodatnia. Jako mitogen stosowana jest lektyna ze szkarłatki (PWM – Pokeweed mitogen) – związek, który nieswoiście pobudza limfocyty do proliferacji i wydzielania cytokin, m.in. interferonu gamma.

Dla prawidłowej interpretacji każdego testu EliSpot konieczne jest uzyskanie dodatnich wyników w kontroli z mitogenem. Stanowi to dowód na to, że w teście użyto żywych limfocytów, które charakteryzowały się pełną zdolnością do reakcji z antygenami.

EliSpot Yersinia

Test EliSpot Yersinia dedykowany jest wykrywaniu aktywnego zakażenia pałeczkami *Yersinia eneterocolitica* i *Yersinia pseudotuberculosis*.

Jako antygen wykorzystano w nim oczyszczone, natywne białka wydzielnicze YOP (Yersinia Outer Proteins), będące produktem genu wirulencji pYV pałeczek *Yersinia*. Oznacza to, że białka YOP wytwarzane są jedynie przez patogenne dla ludzi szczepy *Yersinia* (czyli takie, które posiadają plazmid pYV). Białka YOP syntetyzowane są w organizmie żywiciela zarówno przez szczepy należące do gatunku *Y. eneterocolitica*, jak i *Y. pseudotuberculosis*, stąd przy pomocy testu EliSpot Yersnia nie można różnicować tych zakażeń (możliwe jest różnicowanie serologiczne dedykowanym do tego celu testem immunoblot, będącym w ofercie CMW).

Poprzez zastosowanie jako antygenów białek YOP, zapewniono wykrywanie zakażeń powodowanych jedynie przez patogenne szczepy *Yersinia* (nie wykrywa się tu przypadkowych kontaktów ze „środowiskowymi" szczepami *Yersinia*, występującymi np. u zwierząt hodowlanych).

Pałeczki *Yersinia*, podobnie jak pozostałe *Enterobacteriaceae*, bogate są w lipopolisacharydy (LPS), a więc związki mogące w sposób nieswoisty aktywować limfocyty T. Aby zminimalizować te zjawisko i uniknąć ryzyka uzyskania wyniku fałszywie dodatniego, wprowadziliśmy do medium hodowlanego czynnik inaktywujący LPS, co dodatkowo zapewnia wysoką specyficzność badania.

Za wynik dodatni uważana jest wartość indeksu stymulacji (SI) powyżej 3 (aktywne zakażenie). Indeksy stymulacji w zakresie od 2 do 3 wskazują na możliwość aktywnego zakażenia (wynik graniczny).

Wyniki testu EliSpot	Wartości indeksów stymulacji (SI)
Ujemny	**Poniżej 2**
Graniczny (wątpliwy)	**Od 2 do 3**
Dodatni	**Powyżej 3**

W celu weryfikacji stanu funkcjonalnego (żywotności i zdolności do aktywacji) limfocytów pacjenta dla każdego testu EliSpot wykonywane jest badanie z mitogenem, tzw. kontrola dodatnia. Jako mitogen stosowana jest lektyna ze szkarłatki (PWM – Pokeweed mitogen) – związek, który nieswoiście pobudza limfocyty do proliferacji i wydzielania cytokin, m.in. interferonu gamma.

Dla prawidłowej interpretacji każdego testu EliSpot konieczne jest uzyskanie dodatnich wyników w kontroli z mitogenem. Stanowi to dowód na to, że w teście użyto żywych limfocytów, które charakteryzowały się pełną zdolnością do reakcji z antygenami.

EliSpot Chlamydia pneumoniae i Chlamydia trachomatis

Testy EliSpot Chlamydia pneumoniae i Chlamydia trachomatis dedykowane są wykrywaniu aktywnych zakażeń bakteriami należących do gatunków *Chlamydia pneumoniae* i *Chlamydia trachomatis*.

Jako antygeny wykorzystano w nich wysokooczyszczone, natywne białka tych patogenów:

- ✓ dla *Ch. pneumoniae* (serotyp TWAR, szczep TW-183) – kompleks białek błony zewnętrznej (Chlamydial outer membrane complexes - COMCs) uzyskany przez ekstrakcję detergentem oczyszczonych ciałek retikularnych i podstawowych wyizolowanych z zakażonej linii komórkowej BGM,
- ✓ dla *Ch. trachomatis* (serotyp LGV II, szczep 434) – preparat ciałek retikularnych i elementarnych uzyskany z hodowli na komórkach Vero i oczyszczony drogą ultrawirowania w gradiencie gęstości.

Użycie wysokooczyszczonych preparatów antygenowych do stymulacji limfocytów zapewnia dużą specyficzność badania EliSpot i minimalizuje ryzyko uzyskania wyników fałszywie dodatnich.

Za wynik dodatni uważana jest wartość indeksu stymulacji (SI) powyżej 3 (aktywne zakażenie). Indeksy stymulacji w zakresie od 2 do 3 wskazują na możliwość aktywnego zakażenia (wynik graniczny).

Wyniki testu EliSpot	Wartości indeksów stymulacji (SI)
Ujemny	**Poniżej 2**
Graniczny (wątpliwy)	**Od 2 do 3**
Dodatni	**Powyżej 3**

W celu weryfikacji stanu funkcjonalnego (żywotności i zdolności do aktywacji) limfocytów pacjenta dla każdego testu EliSpot wykonywane jest badanie z mitogenem, tzw. kontrola dodatnia. Jako mitogen stosowana jest lektyna ze szkarłatki (PWM – Pokeweed mitogen) – związek, który nieswoiście pobudza limfocyty do proliferacji i wydzielania cytokin, m.in. interferonu gamma.

Dla prawidłowej interpretacji każdego testu EliSpot konieczne jest uzyskanie dodatnich wyników w kontroli z mitogenem. Stanowi to dowód na to, że w teście użyto żywych limfocytów, które charakteryzowały się pełną zdolnością do reakcji z antygenami.

EliSpot Mycoplasma pneumoniae

Test przeznaczony do diagnostyki i oceny aktywności zakażeń powodowanych przez *Mycoplasma pneumoniae*.

Jako antygeny wykorzystywane są wysokooczyszczone białka natywne uzyskane z hodowanego w pożywce płynnej szczepu FH *Mycoplasma pneumoniae*. Proces produkcji antygenu prowadzi do jego wzbogacenia w adhezynę P1 – jedno z najważniejszych białek antygenowych mykoplazm.

Użycie wysokooczyszczonych preparatów antygenowych do stymulacji limfocytów zapewnia dużą specyficzność badania EliSpot i minimalizuje ryzyko uzyskania wyników fałszywie dodatnich.

Za wynik dodatni uważana jest wartość indeksu stymulacji (SI) powyżej 3 (aktywne zakażenie). Indeksy stymulacji w zakresie od 2 do 3 wskazują na możliwość aktywnego zakażenia (wynik graniczny).

Wyniki testu EliSpot	Wartości indeksów stymulacji (SI)
Ujemny	**Poniżej 2**
Graniczny (wątpliwy)	**Od 2 do 3**
Dodatni	**Powyżej 3**

W celu weryfikacji stanu funkcjonalnego (żywotności i zdolności do aktywacji) limfocytów pacjenta dla każdego testu EliSpot wykonywane jest badanie z mitogenem, tzw. kontrola dodatnia. Jako mitogen stosowana jest lektyna ze szkarłatki (PWM – Pokeweed mitogen) – związek, który nieswoiście pobudza limfocyty do proliferacji i wydzielania cytokin, m.in. interferonu gamma.

Dla prawidłowej interpretacji każdego testu EliSpot konieczne jest uzyskanie dodatnich wyników w kontroli z mitogenem. Stanowi to dowód na to, że w teście użyto żywych limfocytów, które charakteryzowały się pełną zdolnością do reakcji z antygenami.

EliSpot Aspergillus

Test przeznaczony do diagnostyki i oceny aktywności zakażeń powodowanych przez grzyby pleśniowe z rodzaju *Aspergillus*.

Jako antygeny wykorzystywane są mieszanki peptydów reprezentujących immunodominujące fragmenty antygenów somatycznych i metabolicznych grzybów z rodzaju *Aspergillus*.

Ze względu na zbliżoną sekwencję antygenów test wykrywa aktywne zakażenia spowodowane wszystkimi gatunkami grzybów pleśniowych z rodzaju *Aspergillus*. Użycie antygenów peptydowych zapewnia wysoką swoistość uzyskanych wyników.

Użycie wysokooczyszczonych preparatów antygenowych do stymulacji limfocytów zapewnia dużą specyficzność badania EliSpot i minimalizuje ryzyko uzyskania wyników fałszywie dodatnich.

Za wynik dodatni uważana jest wartość indeksu stymulacji (SI) powyżej 3 (aktywne zakażenie). Indeksy stymulacji w zakresie od 2 do 3 wskazują na możliwość aktywnego zakażenia (wynik graniczny).

Wyniki testu EliSpot	Wartości indeksów stymulacji (SI)
Ujemny	**Poniżej 2**
Graniczny (wątpliwy)	**Od 2 do 3**
Dodatni	**Powyżej 3**

W celu weryfikacji stanu funkcjonalnego (żywotności i zdolności do aktywacji) limfocytów pacjenta dla każdego testu EliSpot wykonywane jest badanie z mitogenem, tzw. kontrola dodatnia. Jako mitogen stosowana jest lektyna ze szkarłatki (PWM – Pokeweed mitogen) – związek, który nieswoiście pobudza limfocyty do proliferacji i wydzielania cytokin, m.in. interferonu gamma.

Dla prawidłowej interpretacji każdego testu EliSpot konieczne jest uzyskanie dodatnich wyników w kontroli z mitogenem. Stanowi to dowód na to, że w teście użyto żywych limfocytów, które charakteryzowały się pełną zdolnością do reakcji z antygenami.

EliSpot Candida

Test przeznaczony do diagnostyki i oceny aktywności zakażeń powodowanych przez grzyby drożdżopodobne z rodzaju *Candida*.

Jako antygeny wykorzystywane są natywne antygeny somatyczne *Candida albicans* i natywne antygeny somatyczne innych gatunków *Candida* (antygen Candida non-albicans). W skład antygenu „non-albicans" wchodzą antygeny wyizolowane z *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. rugosa*, *C. kefyr*, *C. sake*, *C. lusitaniae* i *C. tropicalis*. Antygeny somatyczne zawierają w swoim składzie m.in. białka cytoplazmatyczne grzyba i antygeny mannanowe jego ściany komórkowej.

Ze względu na wykorzystanie w teście antygenów wielu gatunków drożdżaków badanie wykrywa aktywne zakażenia spowodowane większością klinicznie istotnych gatunków z rodzaju *Candida*.

W celu potwierdzenia układowego charakteru zakażenia konieczne jest uzyskanie pozytywnego wyniku badania mikologicznego (hodowla), wykrycie jego materiału genetycznego lub antygenu mannanowego.

Za wynik dodatni uważana jest wartość indeksu stymulacji (SI) powyżej 3 (aktywne zakażenie). Indeksy stymulacji w zakresie od 2 do 3 wskazują na możliwość aktywnego zakażenia (wynik graniczny).

Wyniki testu EliSpot	Wartości indeksów stymulacji (SI)
Ujemny	**Poniżej 2**
Graniczny (wątpliwy)	**Od 2 do 3**
Dodatni	**Powyżej 3**

W celu weryfikacji stanu funkcjonalnego (żywotności i zdolności do aktywacji) limfocytów pacjenta dla każdego testu EliSpot wykonywane jest badanie z mitogenem, tzw. kontrola dodatnia. Jako mitogen stosowana jest lektyna ze szkarłatki (PWM – Pokeweed mitogen) – związek, który nieswoiście pobudza limfocyty do proliferacji i wydzielania cytokin, m.in. interferonu gamma.

Dla prawidłowej interpretacji każdego testu EliSpot konieczne jest uzyskanie dodatnich wyników w kontroli z mitogenem. Stanowi to dowód na to, że w teście użyto żywych limfocytów, które charakteryzowały się pełną zdolnością do reakcji z antygenami.

EliSpot CMV

Ludzki cytomegalowirus (CMV, HCMV) jest wirusem należącym do rodziny *Herpesviridae*. Po pierwotnym zakażeniu CMV, podobnie jak inne herpeswirusy, cechuje się zdolnością do długotrwałego przebywania w stanie latencji. Infekcja CMV może jednak reaktywować się, a dla osób z immunosupresją CMV może stać się znaczącym patogenem i być przyczyną ciężkich patologii. Nie można wykluczyć również udziału wirusa w rozwoju innych patologii, jak miażdżyca i ostre incydenty naczyniowe oraz nowotwory.

W okresie zakażenia latentnego nie zachodzi replikacja wirusa, jakkolwiek DNA wirusa, wbudowane w DNA komórek gospodarza, podlega ekspresji. Komórkami, w których dochodzi do uśpienia wirusa, są monocyty i hematopoetyczne komórki pnia. Wirus może natomiast zakażać różne komórki układu odpornościowego, np. komórki dendrytyczne, co może zaburzać ich fizjologiczne funkcje.

Największe ryzyko zdrowotne stwarza pierwotne, wrodzone zakażenie u noworodków oraz reaktywacja latentnych zakażeń u pacjentów z immunosupresją.

Zakażenie CMV prowadzi do powstania zarówno odpowiedzi humoralnej, jak i komórkowej, a liczne badania dowodzą, że specyficzne dla CMV limfocyty T cytotoksyczne pełnią ważną rolę w kontroli zakażenia.

Po zakażeniu komórek docelowych wirusem CMV w pierwszym etapie dochodzi przy udziale wirusowego białka pp65 do aktywacji transkrypcji tzw. średniowczesnych genów (IE-1, IE-2). W późnych fazach infekcji ekspresji podlegają głównie białka strukturalne wirusa, np. pp65. Antygeny IE-1 i pp65 są najbardziej immunodominującymi białkami wirusa CMV. Ponadto ocena odpowiedzi komórkowej na te antygeny pozwala na różnicowanie pomiędzy ostrą lub aktywną fazą zakażenia, a fazą latentną.

Wykorzystane w teście EliSpot CMV antygeny to mieszanina peptydów (9-11 reszt aminokwasowych) reprezentujących sekwencje antygenów pp65 (białko płaszcza wirionu) i IE-1 (immediate early protein 1).

Za wynik dodatni uważana jest wartość indeksu stymulacji (SI) powyżej 3 (aktywne zakażenie). Indeksy stymulacji w zakresie od 2 do 3 wskazują na możliwość aktywnego zakażenia (wynik graniczny).

Wyniki testu EliSpot	Wartości indeksów stymulacji (SI)
Ujemny	Poniżej 2
Graniczny (wątpliwy)	Od 2 do 3
Dodatni	Powyżej 3

Zasady różnicowania pomiędzy aktywnym a latentnym zakażeniem CMV przedstawiono w tabeli:

Obecność pozytywnej reakcji z antygenem/antygenami CMV	Interpretacja
pp65 i IE1	Aktywne zakażenie CMV.
pp65 (i negatywna reakcja z IE1)	Latentne (uśpione) zakażenie CMV lub późna faza zakażenia CMV.
IE1 (i negatywna reakcja z pp65)	Nietypowa reakcja. Może wskazywać na aktywne zakażenia CMV.

W celu weryfikacji stanu funkcjonalnego (żywotności i zdolności do aktywacji) limfocytów pacjenta dla każdego testu EliSpot wykonywane jest badanie z mitogenem, tzw. kontrola dodatnia. Jako mitogen stosowana jest lektyna ze szkarłatki (PWM – Pokeweed mitogen) – związek, który nieswoiście pobudza limfocyty do proliferacji i wydzielania cytokin, m.in. interferonu gamma.

Dla prawidłowej interpretacji każdego testu EliSpot konieczne jest uzyskanie dodatnich wyników w kontroli z mitogenem. Stanowi to dowód na to, że w teście użyto żywych limfocytów, które charakteryzowały się pełną zdolnością do reakcji z antygenami.

EliSpot EBV

Wirus Epstein-Barr (EBV) zaliczany jest do herpeswirusów (Human Herpesvirus 4) i jest jednym z najbardziej rozpowszechnionych wirusów w populacji ludzkiej. Do transmisji wirusa dochodzi drogą kontaktów ze śliną lub wydzieliną dróg oddechowych osoby zakażonej (choroba pocałunków).

Możliwa jest też transmisja jatrogenna, poprzez przeszczepienia narządów lub przetoczenie krwi i produktów krwiopochodnych. Po przechorowaniu fazy ostrej (mononukleoza zakaźna), zakażenie przechodzi w fazę latentną (uśpioną). Okresowo jednak zakażenie może ulegać aktywacji. Dzieje się tak najczęściej u pacjentów z immunosupresją, jednak również u osób immunokompetentnych może dochodzić do okresowej aktywacji zakażenia.

Wirus EBV jest wirusem B-limfotropowym. Zakażone, nieaktywne limfocyty B pamięci żyją wiele lat nie wykazując ekspresji białek wirusa. Cykl replikacji wirusa warunkuje ekspresję określonych białek wirusa, co z kolei wywołuje swoistą odpowiedź immunologiczną, zarówno typu komórkowego, jak i humoralnego.

W okresie aktywnej, litycznej fazy replikacji EBV (w przebiegu ostrej, pierwotnej lub przewlekłej, aktywnej infekcji) ekspresji ulegają przede wszystkim antygeny wczesne i średniowczesne. W okresie przejścia zakażenia w fazę latentną ekspresja tych antygenów ulega wygaszeniu, a w ich miejsce syntetyzowane są białka reprezentujące antygeny latentne (głównie EBNA-3A, -3B i -3C).

Antygeny EBV wykorzystane w teście EBV EliSpot są to krótkie peptydy zdolne do aktywacji głównie limfocytów CD8+ i reprezentujące dwa typy antygenów:

- ✓ Antygen lityczny – będący mieszaniną produktów genów BZLF1, BRLF1 i BMRF1 (antygeny wczesne i średniowczesne),
- ✓ Antygen latentny – zawierający peptydy reprezentujące antygeny of EBNA-3A, -3B i -3C, a także LMP. Antygen LMP (Latent Membrane Protein) jest funkcjonalnym homologiem antygenu CD40 na limfocytach B.

Za wynik dodatni uważana jest wartość indeksu stymulacji (SI) powyżej 3 (aktywne zakażenie). Indeksy stymulacji w zakresie od 2 do 3 wskazują na możliwość aktywnego zakażenia (wynik graniczny).

Wyniki testu EliSpot	Wartości indeksów stymulacji (SI)
Ujemny	**Poniżej 2**
Graniczny (wątpliwy)	**Od 2 do 3**
Dodatni	**Powyżej 3**

Zasady różnicowania pomiędzy aktywnym a latentnym zakażeniem EBV przedstawiono w tabeli:

Obecność pozytywnej reakcji z antygenem/antygenami EBV	Interpretacja
Antygen lityczny + antygen latentny	**Aktywne zakażenie EBV.**
Antygen latentny	**Latentne (uśpione) zakażenie EBV lub późna faza zakażenia EBV.**
Antygen lityczny	**Może wskazywać na aktywne zakażenia EBV.**

W celu weryfikacji stanu funkcjonalnego (żywotności i zdolności do aktywacji) limfocytów pacjenta dla każdego testu EliSpot wykonywane jest badanie z mitogenem, tzw. kontrola dodatnia. Jako mitogen stosowana jest lektyna ze szkarłatki (PWM – Pokeweed mitogen) – związek, który nieswoiście pobudza limfocyty do proliferacji i wydzielania cytokin, m.in. interferonu gamma.

Dla prawidłowej interpretacji każdego testu EliSpot konieczne jest uzyskanie dodatnich wyników w kontroli z mitogenem. Stanowi to dowód na to, że w teście użyto żywych limfocytów, które charakteryzowały się pełną zdolnością do reakcji z antygenami.

EliSpot HSV-1 i HSV-2

Wirusy HSV-1 i HSV-2 są kolejnymi wirusami z rodziny *Herpesviridae*. HSV-1 odpowiada za okresowo występujące zmiany opryszczkowe okolicy warg i jamy ustnej, zaś HSV-2 – za opryszczkę narządów płciowych. U osób z immunosupresją oba typy wirusa mogą odpowiadać za uogólnione i ciężko przebiegające zakażenia, w tym opryszczkowe zapalenia mózgu. Po pierwotnym zakażeniu, mającym miejsce najczęściej w okresie wczesnego dzieciństwa, wirusy HSV-1 i HSV-2 przechodzą w fazę latentną. W okresach spadku odporności oraz u osób z immunosupresją ulegają one aktywacji, prowadząc do pojawienia się zmian miejscowych charakterystycznych dla wirusa danego typu lub objawów ogólnoustrojowych.

W teście EliSpot HSV-1 i HSV-2 wykorzystywane są natywne i rekombinowane antygeny wirusów HSV-1 i HSV-2. Zapobiega to przypadkowym, związanym z dużym podobieństwem antygenów obu wirusów, rekcjom krzyżowym pomiędzy HSV-1 i HSV-2.

Za wynik dodatni uważana jest wartość indeksu stymulacji (SI) powyżej 3 (aktywne zakażenie). Indeksy stymulacji w zakresie od 2 do 3 wskazują na możliwość aktywnego zakażenia (wynik graniczny).

Wyniki testu EliSpot	Wartości indeksów stymulacji (SI)
Ujemny	**Poniżej 2**
Graniczny (wątpliwy)	**Od 2 do 3**
Dodatni	**Powyżej 3**

W celu weryfikacji stanu funkcjonalnego (żywotności i zdolności do aktywacji) limfocytów pacjenta dla każdego testu EliSpot wykonywane jest badanie z mitogenem, tzw. kontrola dodatnia. Jako mitogen stosowana jest lektyna ze szkarłatki (PWM – Pokeweed mitogen) – związek, który nieswoiście pobudza limfocyty do proliferacji i wydzielania cytokin, m.in. interferonu gamma.

Dla prawidłowej interpretacji każdego testu EliSpot konieczne jest uzyskanie dodatnich wyników w kontroli z mitogenem. Stanowi to dowód na to, że w teście użyto żywych limfocytów, które charakteryzowały się pełną zdolnością do reakcji z antygenami.

EliSpot VZV

Wirus ospy wietrznej i półpaśca jest kolejnym wirusem z rodziny *Herpesviridae*.

Podobnie jak pozostałe wirusy tej grupy, po okresie ostrej, pierwotnej infekcji (klinicznie: ospa wietrzna), przechodzi w fazę zakażenia latentnego, które w sprzyjających warunkach, może ulec reaktywacji i uczynnieniu (klinicznie jako półpasiec).

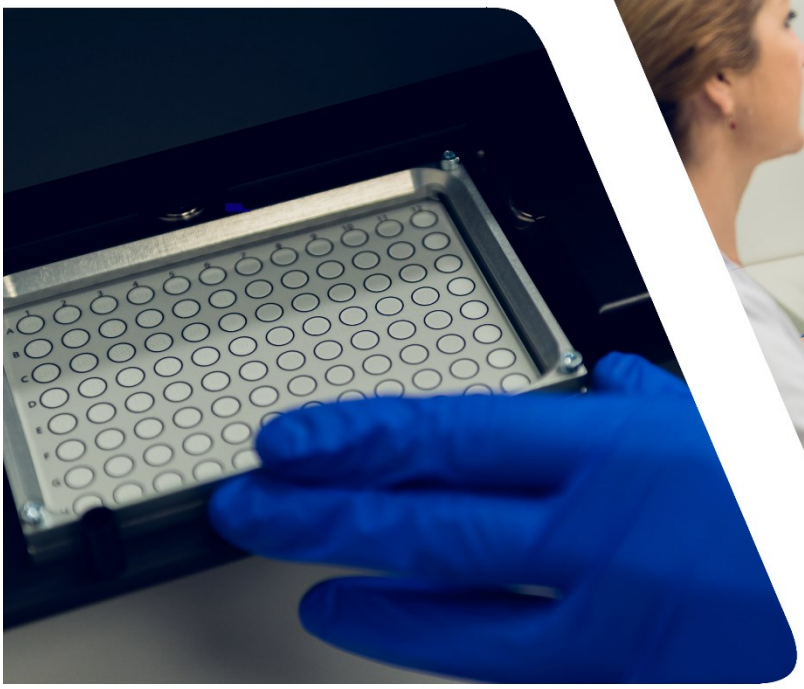
Test EliSpot VZV wykorzystuje natywny, wysokooczyszczony antygen wirusa VZV, co warunkuje oczekiwaną specyficzność wyniku.

Za wynik dodatni uważana jest wartość indeksu stymulacji (SI) powyżej 3 (aktywne zakażenie). Indeksy stymulacji w zakresie od 2 do 3 wskazują na możliwość aktywnego zakażenia (wynik graniczny).

Wyniki testu EliSpot	Wartości indeksów stymulacji (SI)
Ujemny	**Poniżej 2**
Graniczny (wątpliwy)	**Od 2 do 3**
Dodatni	**Powyżej 3**

W celu weryfikacji stanu funkcjonalnego (żywotności i zdolności do aktywacji) limfocytów pacjenta dla każdego testu EliSpot wykonywane jest badanie z mitogenem, tzw. kontrola dodatnia. Jako mitogen stosowana jest lektyna ze szkarłatki (PWM – Pokeweed mitogen) – związek, który nieswoiście pobudza limfocyty do proliferacji i wydzielania cytokin, m.in. interferonu gamma.

Dla prawidłowej interpretacji każdego testu EliSpot konieczne jest uzyskanie dodatnich wyników w kontroli z mitogenem. Stanowi to dowód na to, że w teście użyto żywych limfocytów, które charakteryzowały się pełną zdolnością do reakcji z antygenami.



Piśmiennictwo:

Callister SM, Jobe DA, Stuparic-Stancic A et al. Detection of IFN-_ Secretion by T Cells Collected Before and After Successful Treatment of Early Lyme Disease. Clin Inf Dis 2016: 62, 1235-1241,

Fiecek B, Chmielewski T, Tylewska-Wierzbanowska S. Borrelia miyamotoi – nowy czynnik etiologiczny neuroboreliozy? Przegl Epidemiol 2017; 71(4): 531-538,

Gross DM, Forsthuber T, Tary-Lehmann M, et al. Identification of LFA-1 as a candidate autoantigen in treatment-resistant Lyme arthritis. Science. 1998; 281: 703–706,

Jin Ch, Roen DR, Lehmann PV, et al. An Enhanced ELISPOT Assay for Sensitive Detection of Antigen-Specific T Cell Responses to Borrelia burgdorferi. Cells 2013, 2, 607-620; doi:10.3390/cells2030607,

Kalyuzhny AE. Handbook of ELISPOT: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology, Vol. 792. 2nd Ed: Springer; 2012.

Puri BK, Segal DRM, Monro JA. Diagnostic use of the lymphocyte transformation test-memory lymphocyte immunostimulation assay in confirming active Lyme borreliosis in clinically and serologically ambiguous cases. Int J Clin Exp Med 2014;7(12):5890-5892.

Valentine-Thon E, Ilsemann K, Sandkamp M. A novel lymphocyte-transformation test (LTT-MELISA) for Lyme borreliosis. Diagn Microbiol Infec Dis 2007: 57, 27-34,

von Baehr V, Doebis C, Volk H-D et al. The Lymphocyte Transformation Test for Borrelia Detects Active Lyme Borreliosis and Verifies Effective Antibiotic Treatment. The Open Neurology Journal, 2012, 6, (Suppl 1-M5) 104-112,

Autor opracowania:

Dr hab. n. med. Tomasz Wielkoszyński

Lekarz – specjalista diagnostyki laboratoryjnej

LABORATORIUM
CENTRUM MEDYCZNE
WIELKOSZYŃSKI

Centrum Medyczne Wielkoszyński
Aleja Józefa Piłsudskiego 10
41-300 Dąbrowa Górnicza

+48 506 112 819
biuro(@)wielkoszynski.pl
wielkoszynski
cmwielkoszynski
wielkoszynski.pl

Copyright by Centrum Medyczne Wielkoszyński – zakaz wykorzystania tekstów z przewodnika do celów innych niż edukacyjne oraz kopiowania ich bez zgody autora.