

‘Memory lymphocyte immunostimulation assay’ (MELISA): onbruikbaar bij de diagnostiek van metaalallergie

R.A.P.Koene

De zogenaamde ‘memory lymphocyte immunostimulation assay’ (MELISA) wordt aangeprezen als een test waarmee allergie voor metalen zoals kwik, nikkel, goud, cadmium en palladium kan worden aangetoond. De test is ontwikkeld door Stejskal et al. in Zweden en in 1994 gepubliceerd.¹ In een vervolgartikel in 1999 beschreven Stejskal et al. de toepassing van de test bij meer dan 3000 patiënten die klachten hadden over afwijkingen in de mond of die algemene symptomen hadden die leken op chronische vermoeidheid.² Verwijdering van tandvullingen bestaande uit amalgaam of andere metalen leidde volgens de auteurs bij de meerderheid van de patiënten tot vermindering van de klachten. Een herhaling van de test liet zien dat de metaalallergie daarna ook verminderd was.

In beide publicaties werden het aantal geteste controlepersonen en details over de bij hen verkregen resultaten niet vermeld. Er is daardoor geen uitspraak te doen over de sensitiviteit en de specificiteit van de test of over de voorspellende waarde. Desondanks wordt de test aanbevolen voor het vaststellen van een groot aantal ziekten en afwijkingen, waaronder amalgaamovergevoeligheid, chronisch vermoeidheidssyndroom en multiple sclerose. Aangezien er in vaccins kleine hoeveelheden kwik kunnen vóórkomen, namelijk in het conserveringsmiddel thiomersal, wordt de test ook aanbevolen om kwikovergevoeligheid bij kinderen te testen, omdat bij deze kinderen ‘vaccinatie zou kunnen leiden tot autisme’. Voor een dergelijke relatie ontbreken wetenschappelijke aanwijzingen.³

DE MELISA-TEST

In het laboratorium worden uit een bloedmonster van de te testen persoon de lymfocyten geïsoleerd en in kweek gebracht. Aan de kweek worden oplossingen van een metaalzout, onder andere van kwik, nikkel, goud, cadmium en palladium, in verschillende verdunningen toegevoegd. Vooral de metalen die gebruikt worden om caviteiten in tanden te vullen, krijgen veel aandacht. Lymfocyten die gesensibiliseerd zijn door eerder contact van de onderzochte persoon met metalen, kunnen bij een hernieuwd contact met het metaal in vitro gestimuleerd worden tot celdeling.

Hr.prof.dr.R.A.P.Koene, emeritus hoogleraar Nierziekten, Dromedarisstraat 40, 6531 NV Nijmegen.

Met behulp van de incorporatie van radioactief thymidine meet men vervolgens die celproliferatie. Een stijging zou erop kunnen wijzen dat er overgevoeligheid voor het betreffende metaal aanwezig is. De cellen hebben als het ware geheugen voor het metaal ontwikkeld. Daarom noemde Stejskal deze test ‘memory lymphocyte immunostimulation assay’.

Lymfocytentransformatietest. De benaming ‘MELISA’ is misleidend doordat de test vrijwel identiek is aan de al langer bekende en veelgebruikte lymfocytentransformatietest (LTT). Het enige verschil met deze test is dat in de MELISA-test tevoren de monocytten uit het celpreparaat worden verwijderd. Bovendien scheidt de afkorting ‘MELISA’ verwarring, doordat deze sterk lijkt op ELISA (‘enzyme-linked immunosorbent assay’). Deze volledig andere test wordt in elk immunologisch en klinisch-chemisch laboratorium gebruikt voor het meten van concentraties van allerlei stoffen.

In de literatuur vindt men een aantal publicaties waar verschillende andere tests met de afkorting ‘MELISA’ worden beschreven. In al die gevallen gaat het om de klassieke ELISA. De ‘M’ van de afkorting staat daar voor ‘magnetic’,^{4,5} ‘microquantitative’,⁶ ‘mixed’⁷ of ‘multiple’.⁸ Ondanks het ontbreken van een deugdelijke wetenschappelijke validering van de test hebben Stejskal et al. nog enkele artikelen gepubliceerd over de behandeling van patiënten bij wie de testuitslag positief was.⁹⁻¹² In de literatuur is nog een andere publicatie te vinden waarin de test als waardevol wordt aangeprezen.¹³ Deze publicatie blijkt afkomstig te zijn uit één van de commerciële MELISA-laboratoria die Stejskal inmiddels in Europa heeft opgericht.

ONDERZOEK NAAR DE WAARDE VAN DE MELISA-TEST

In 1997 testte Cederbrant, oud-medewerker van Stejskal en medeauteur bij de eerste publicatie,¹ 34 patiënten met tekenen van metaalovergevoeligheid. Bij 20 van hen vond zij met een standaardhuidtest overgevoeligheid voor goud, bij 19 voor nikkel en bij 18 voor palladium. Een positieve huidtestuitslag geldt als de beste aanwijzing voor de aanwezigheid van metaalovergevoeligheid (gouden standaard). Zij vergeleek de resultaten van de huidtest met die van de MELISA-test en die van de conventionele LTT. Zij publiceerde de resultaten in een immunologisch tijdschrift.¹⁴ Haar conclusie luidde dat de MELISA-test niet bruikbaar was wegens een groot aantal fout-positieve uitslagen. In de test met nikkel

vond zij bijvoorbeeld een sensitiviteit van 95% en een specificiteit van slechts 25%. Zij vond ook geen significante verschillen tussen de resultaten in de MELISA-test en die in de conventionele LTT. In 1999 testte zij nog eens de betrouwbaarheid van de MELISA-test voor het opsporen van kwikovergevoeligheid.¹⁵ Zij gebruikte daarbij lage concentraties van kwikoplossingen (kwikchloride 0,5 µg/l), omdat inmiddels was gebleken dat het gebruik van hogere metaalconcentraties resulteerde in niet-specifieke proliferatie van de lymfocyten en dus in fout-positieve reacties. Zij publiceerde haar studie in een toonaangevend tandheelkundig tijdschrift, *The Journal of Dental Research*.

De MELISA-test bleek niet bruikbaar. De conclusie van Cederbrant et al. was de volgende: 'Er werd een hoge frequentie van positieve resultaten gevonden bij gezonde personen met of zonder tandamalgaam. Daaruit blijkt dat de proliferatie van lymfocyten in kweek in de aanwezigheid van kwikchloride niet bruikbaar is als een objectieve marker voor kwikallergie bij personen met amalgaamtandvullingen'.¹⁵ Al in 1998 waarschuwde de Duitse Contactallergie-groep voor het gebruik van de MELISA-test bij het opsporen van metaalovergevoeligheid.¹⁶

De MELISA-test wordt desondanks gepropageerd. Ondanks het ontbreken van een betrouwbare validering van de test is in Europa een netwerk van 8 commerciële instellingen gevormd waar de test wordt uitgevoerd. Er is ook een vestiging in Zuid-Afrika en in de Verenigde Staten. De kosten van de test variëren van 40 tot 400 euro, afhankelijk van het aantal metalen dat getest wordt. Op de website van de Melisa Medica Foundation (www.melisa.org) worden 17 ziekten genoemd waarbij metaalallergie een rol zou spelen. In de wetenschappelijke literatuur is hiervoor geen steun te vinden.

De Melisa Medica Foundation organiseert thans overall in Europa congressen over metaalallergie. Er is vooral veel aandacht voor het gebied van de tandheelkunde. Hierbij wordt gepleit voor een metaalvrije tandheelkunde. Bij patiënten met een positieve MELISA-testuitslag dient alle metaal uit de mond te worden verwijderd. Men kan zich de onzekerheid voorstellen van tandartsen en artsen die op immunologisch terrein geen speciale kennis bezitten, zeker als zo'n congres georganiseerd wordt in samenwerking met universitaire instellingen. Op de website verwijst de Foundation naar onderzoeksprojecten in samenwerking met verschillende universiteiten, waaronder het Academisch Centrum Tandheelkunde Amsterdam (ACTA). Men kan daar ook een poster downloaden waarin de resultaten van het onderzoek met de MELISA-test worden gepresenteerd (www.melisa.org/archive/Feilzer2005.pdf). Het onderzoek aan het ACTA heeft als doel een diagnostische methode te ontwikkelen waarmee allergische reacties tegen tandheelkundige materialen kunnen worden aangetoond.¹⁷ Het lijkt echter wetenschappelijk niet waarschijnlijk dat dit doel met de MELISA-test bereikt zal worden.

Er zijn geen aanwijzingen dat de MELISA-test betrouwbare informatie geeft over de aanwezigheid van metaalallergie. De beweringen dat metaalallergie een rol zou spelen bij aandoeningen in de mond en bij een groot aantal immuunziekten, stofwisselingsziekten, neurologische en psychische aandoeningen steunen niet op een deugdelijke wetenschappelijke bewijsvoering. Er is daarom geen reden om op geleide van een positieve uitslag van deze test medische behandelingen in te stellen.

Prof.I.J.ten Berge, klinisch immunoloog, gaf commentaar op het manuscript.

Belangenconflict: geen gemeld. Financiële ondersteuning: geen gemeld.

Aanvaard op 24 juni 2005

Literatuur

- 1 Stejskal VDM, Cederbrant K, Lindvall A, Forsbeck M. Melisa: an in vitro tool for the study of metal allergy. *Toxicology in Vitro* 1994;8: 991-1000.
- 2 Stejskal VDM, Danersund A, Lindvall A, Hudecek R, Nordman V, Yaqob A, et al. Metal-specific lymphocytes: biomarkers of sensitivity in man. *Neuro Endocrinol Lett* 1999;20:289-98.
- 3 Meadows M. IOM report: no link between vaccines and autism. *FDA Consum* 2004;338:18-9.
- 4 Pires de Camargo Z, Guesdon JL, Drouhet E, Improvisi L. Magnetic enzyme-linked immunosorbent assay (MELISA) for determination of specific IgG in paracoccidiodomycosis. *Sabouraudia* 1984;22:291-9.
- 5 Pires de Camargo Z, Unterkircher C, Drouhet E. Comparison between magnetic enzyme-linked immunosorbent assay (MELISA) and complement fixation test (CF) in the diagnosis of paracoccidiodomycosis. *J Med Vet Mycol* 1986;24:77-9.
- 6 Kovachev D, Tsanev D, Kncheva M, Stoilov S. Mikrokolichestvenni enzimi imunosorbentni metod (MELISA) s priako izmerane na rezultate vrkhu plakata. [Microquantitative enzyme immunosorbent method (MELISA) with direct measurement of the results on the plate]. *Eksp Med Morfol* 1988;27:19-24.
- 7 Bjerrum OW, Borregaard N. Mixed enzyme-linked immunosorbent assay (MELISA) for HLA class I antigen: a plasma membrane marker. *Scand J Immunol* 1990;31:305-13.
- 8 Mallinson ET, Snyder DB, Marquardt WW, Russek-Cohen E, Savage PK, Allen DC, et al. Presumptive diagnosis of subclinical infections utilizing computer-assisted analysis of sequential enzyme-linked immunosorbent assays against multiple antigens. *Poult Sci* 1985;64: 1661-9.
- 9 Sterzl I, Prochazkova J, Hrdá P, Bartova J, Matucha P, Stejskal VDM. Mercury and nickel allergy: risk factors in fatigue and autoimmunity. *Neuro Endocrinol Lett* 1999;20:221-8.
- 10 Stejskal VDM, Forsbeck M, Cederbrant KE, Asteman O. Mercury-specific lymphocytes: an indication of mercury allergy in man. *J Clin Immunol* 1996;16:31-40.
- 11 Podzimek S, Prochazkova J, Pribylova L, Bartova J, Ulcova-Galova Z, Mrklas L, et al. Vliv tezkych kovu na imunitni reakci u pacientu s prokaza. [Effect of heavy metals on immune reactions in patients with infertility]. *Cas Lek Cesk* 2003;142:285-8.
- 12 Prochazkova J, Sterzl I, Kucerova H, Bartova J, Stejskal VDM. The beneficial effect of amalgam replacement on health in patients with autoimmunity. *Neuro Endocrinol Lett* 2004;25:211-8.

- 13 Valentine-Thon E, Schiwara HW. Validity of MELISA for metal sensitivity testing. *Neuro Endocrinol Lett* 2003;24:57-64.
- 14 Cederbrant K, Hultman P, Marcusson JA, Tibbling L. In vitro lymphocyte proliferation as compared to patch test using gold, palladium and nickel. *Int Arch Allergy Immunol* 1997;112:212-7.
- 15 Cederbrant K, Gunnarsson LG, Hultman P, Norda R, Tibbling-Grahn L. In vitro lymphoproliferative assays with HgCl₂ cannot identify patients with systemic symptoms attributed to dental amalgam. *J Dent Res* 1999;78:1450-8.
- 16 Brehler R, Becker D, Merk H. MELISA – In-vitro-Test zum Nachweis einer Kontaktallergie? Eine Stellungnahme der Deutschen Kontaktallergie-Gruppe. *Hautarzt* 1998;49:418-9.
- 17 Feilzer AJ. Onderzoeksmethoden in de tandheelkunde. III. Materiaal-analyse in het kader van de diagnostiek van toxische en allergische reacties. *Ned Tijdschr Tandheelkd* 2004;111:357-60.

Abstract

The ‘memory lymphocyte immunostimulation assay’ (MELISA) is useless for the detection of metal allergy. – For the past several years, there has been an advertising campaign, especially focused on dentists, to promote the so-called ‘memory lymphocyte immunostimulation assay’ (MELISA) for the detection of metal allergy. A study of the sparse scientific literature reveals that, as a consequence of the high number of false-positive results, this test is of no use for the diagnosis of metal allergy. Moreover, the claims of the developers of the test that metal allergy plays a role in several immune-mediated diseases, metabolic diseases and neurological or mental disorders are not based on sound scientific evidence. *Ned Tijdschr Geneesk* 2005;149:2090-2