

Przydatność testu prowokacji spojówek w diagnostyce alergicznych chorób oczu

The usefulness of conjunctival provocation test in the diagnosis of allergic diseases of the eye

MARTA CHEŁMIŃSKA, ALEKSANDRA GÓRSKA, MAREK NIEDOSZYTKO, EWA JASSEM

Klinika Alergologii Katedry Pneumonologii i Alergologii, Gdański Uniwersytet Medyczny

Streszczenie

Test prowokacji spojówek jest wykorzystywany do diagnostyki alergicznych chorób oczu. Wykonuje się go głównie w sytuacjach, w których nie udało się potwierdzić rozpoznania wykonując punktowe testy skórne czy oznaczając swoiste przeciwciała klasy E. Jest także przydatny w ocenie skuteczności badanych leków oraz w badaniach naukowych mających na celu analizę alergicznej reakcji zapalnej.

Słowa kluczowe: test prowokacji spojówek, alergiczne zapalenie spojówek

Summary

Conjunctival provocation test is used for the diagnosis of allergic diseases of the eye. It is performed mainly in situations where no diagnosis was confirmed by performing skin prick tests or by determining the class of specific antibody E. It is also useful in evaluating the effectiveness of the study drugs and in research intended to analyze the allergic inflammatory reaction.

Keywords: conjunctival provocation test, allergic conjunctivitis

© *Alergia Astma Immunologia* 2014, 19 (2): 71-73

www.alergia-astma-immunologia.eu

Przyjęto do druku: 07.04.2014

Adres do korespondencji / Address for correspondence

Marta Chelmińska

Klinika Alergologii Katedry Pneumonologii i Alergologii, Gdański Uniwersytet Medyczny

80-952 Gdańsk, ul. Dębinki 7

tel./fax: (58) 3491625;

e-mail: allergy@gumed.edu.pl

Wstęp

Test prowokacji spojówek (CPT, *conjunctival provocation test*) jest wykorzystywany do diagnostyki alergicznych chorób narządu wzroku [1]. Polega na ocenie reakcji po podaniu ekstraktu alergenowego do worka spojówkowego. W przypadku dodatniego wyniku testu pojawiają się objawy podobne do występujących w alergicznych zapaleniach spojówek [2].

Wskazania

Najczęstszym wskazaniem do wykonania CPT są rozbieżności pomiędzy danymi uzyskanymi z wywiadu a wynikami badań dodatkowych, punktowych testów skórnych (SPT, *skin prick test*) i/lub swoistych przeciwciał klasy E (slgE, *specific immunoglobulin class E*). Badanie wykonuje się również w przypadkach wątpliwych, u osób kwalifikowanych do immunoterapii swoistej [3]. Potwierdzenie istotności klinicznej danego alergenu przed rozpoczęciem immunoterapii jest istotne w przypadku alergii poliwalentnej. CPT wykorzystuje się także do oceny skuteczności klinicznej immunoterapii swoistej. Kolejne wskazanie obejmuje diagnostykę objawów związanych z narażeniem zawodowym [4,5]. Test stanowi także cenne narzędzie w badaniach naukowych pozwalając na prześledzenie mechanizmów

reakcji alergiczno-zapalnej [6] oraz umożliwia ocenę skuteczności badanych leków [7,8].

Przeciwwskazania

Przeciwwskazania do wykonania CPT obejmują współistniejące choroby oczu (zaćma, jaskra, inne), ciężkie postaci chorób ogólnoustrojowych, zaawansowaną chorobę niedokrwienną serca, ciężę, ostre bakteryjne lub wirusowe choroby infekcyjne, znaczną naturalną ekspozycję na alergen, przeciwwskazania do podania adrenaliny, wiek poniżej 3 roku życia oraz brak możliwości zachowania prawidłowej procedury metodologicznej (braki aparaturowe, brak leków, brak umiejętności wykonującego badanie). Przed podjęciem decyzji o wykonaniu CPT należy starannie przeanalizować przebieg choroby alergicznej pacjenta. Ciężka przebyta reakcja anafilaktyczna w wywiadzie stanowi bowiem przeciwwskazanie bezwzględne do wykonania próby. Uwzględnić należy także stosowanie leków przez badanego (konieczność jednoczesowego przyjmowania leków z grupy beta-blokerów i inhibitorów ACE), a także odstawienie leków w określonym czasie mogących wpłynąć na przebieg badania (leki przeciwhistaminowe, kromoglikany, glikokortykosteroidy, leki antyleukotrienowe, niesteroidowe leki

przeciwzapalne, metyloksantyny, trój- i cztero-cykliczne leki przeciwdepresyjne oraz wybrane leki hipotensyjne - rezerpina i klonidyna [1,9].

Bezpieczeństwo wykonywania CPT

Dospojówkowa próba prowokacyjna z alergenem uważana jest za metodę bezpieczną [1,3,9,10], ale aby zwiększyć bezpieczeństwo w trakcie wykonywania CPT niezbędne jest zachowanie ustalonych procedur przez wyspecjalizowany personel medyczny. Chorego należy każdorazowo poinformować o metodzie wykonywania próby i uzyskać jego zgodę na jej przeprowadzenie. Badanie należy wykonywać w okresie wolnym od objawów. W czasie badania niezbędna jest stała obserwacja lekarska ze względu na ryzyko wystąpienia reakcji miejscowej lub uogólnionej. W razie nasilonej reakcji miejscowej należy przepłukać worek spojówkowy roztworem soli fizjologicznej, a następnie podać krople obkurczające naczynia. W przypadku reakcji uogólnionej należy podać leki zgodnie z przyjętymi standardami postępowania zarezerwowanymi dla reakcji anafilaktycznej. Wykonanie próby prowokacji spojówek należy poprzedzić badaniem internistycznym i okulistycznym [11].

Metodyka wykonania CPT

CPT wykonuje się w okresie wolnym od objawów, po wykluczeniu przeciwwskazań okulistycznych i internistycznych do przeprowadzenia testu [11]. Wyciągi alergenowe w postaci liofilizatów należy rozpuścić w dołączonych do zestawu rozcieńczalnikach bezpośrednio przed badaniem. Maksymalny czas przechowywania przygotowanego roztworu wynosi 24 godziny. Zarówno liofilizaty jak i przygotowane roztwory powinny być przechowywane w temperaturze 4°C. Do prowokacji dospojówkowej należy używać pojedynczych alergenów z wyjątkiem mieszanek traw oraz traw/zbóż, które traktujemy jako pojedyncze alergeny. Zawartość alergenu określa się w jednostkach biologicznych. Dawka alergenu do testów prowokacyjnych jest niższa niż w wyciągach stosowanych w SPT. Natomiast do celów naukowych z reguły stosuje się wyższe stężenia [1].

W trakcie wykonywania CPT chory powinien siedzieć z głową odchyloną do tyłu. Badanie rozpoczyna się od podania do dolnej części worka spojówkowego „oka kontrolnego” 50 µl rozcieńczalnika. Jeżeli nie wystąpi reakcja, do worka spojówkowego „oka badanego” zakrapla się 50 µl wyciągu alergenowego o najniższym stężeniu (1000 BE). Następnie dokonuje się po 10-20 minutach oceny objawów klinicznych (świąd, obrzęk, zaczerwienienie, łzawienie). Jeżeli wynik jest ujemny, procedurę powtarza się z roztworem o wyższym stężeniu (10 000 BE). Brak objawów po podaniu roztworu w wyższym stężeniu uważa się za wynik ujemny [12]. Wyjątkowo można jednego dnia wykonać CPT z dwoma alergenami. Możliwe jest to tylko wtedy, gdy reakcja na pierwszy alergen nie jest silniejsza od reakcji na roztwór kontrolny.

W czasie wykonywania CPT w celu oceny skuteczności badanych leków wykonuje się badanie obuoiczne, co pozwala uzyskać symetryczną reakcję zapalną, niezbędną do oceny skuteczności badanego preparatu. Badanie to powtarza się trzykrotnie. W czasie pierwszej wizyty stosuje

się coraz większe stężenia alergenu aby osiągnąć progową reakcję alergiczną. Druga wizyta, która odbywa się 3 dni później, polega na wykonaniu CPT z najwyższym stężeniem alergenu, które wywołało dodatni wynik w czasie poprzedniego badania. Jest to konieczne w celu potwierdzenia powtarzalności reakcji alergicznej i wyeliminowania efektu kumulacji dawek alergenu. Dopiero w czasie trzeciej wizyty, po kolejnych trzech dniach, chory otrzymuje badany lek do jednego oka a placebo do drugiego. Po 10 minutach wykonuje się obuoicznie CPT wcześniej określoną dawką alergenu. Opisana technika wykonana jest z zastosowaniem metody podwójnie ślepej próby [7, 8]. Niektórzy autorzy zalecają wydłużenie okresu pomiędzy kolejnymi wizytami do 7 dni, aby zmniejszyć prawdopodobieństwo wystąpienia nakładania się reakcji alergicznej po CPT [1].

Ocena objawów klinicznych

Najczęściej do oceny klinicznej CPT wykorzystuje się skalę punktową Abelsona, która polega na monitorowaniu objawów (zaczerwienienie 0-3, obrzęk 0-3, łzawienie 0-3, świąd 0-4) [10]. Test ocenia się dodatnio, jeżeli występuje nasilony świąd (≥ 2) i zaczerwienienie (≥ 1) lub łączna suma objawów wynosi co najmniej 3 punkty. Nasilenie objawów ocenia się w 3., 10. i 20. minucie po prowokacji.

Inni badacze wykorzystują do oceny reakcji skalę Reichelmana, która uwzględnia dodatkowe objawy takie jak uczucie obecności ciała obcego, nastrzyknięcie spojówki gałki ocznej i mięska, nacieczenie spojówki tarczki, światłowstręt, obrzękowe nacieczenie spojówki i obrzęk powiek [12].

Skala Reichelmana:

0 – brak subiektywnej reakcji i widocznych objawów,

I – swędzenie, zaczerwienienie, uczucie obecności ciała obcego,

II – stopień I oraz łzawienie, nastrzyknięcie spojówki gałki ocznej i mięska,

III – stopień II oraz nacieczenie spojówki tarczki i światłowstręt,

IV – stopień III oraz obrzękowe nacieczenie spojówki (chemoza) i obrzęk powiek.

Za wynik dodatni uważa się II stopień wg Reichelmana.

Zmiany w składzie łez po wykonaniu CPT

Do oceny reakcji po wykonaniu CPT wykorzystuje się także pomiar temperatury spojówek oraz oznaczenie markerów biochemicznych i cytologicznych we łzach [1]. Metody te są głównie wykorzystywane w badaniach naukowych, umożliwiają bowiem poznanie mechanizmu natychmiastowej i opóźnionej alergicznej reakcji zapalnej [2,13]. Wynikiem reakcji natychmiastowej jest stwierdzenie we łzach wzrostu stężenia mediatorów takich jak histamina, serotonina, heparyna, tromboksany, leukotrieny B₄, C₄, D₄, kininy, PGD₂ oraz aktywności esterazy i tryptazy [1,11]. Podczas reakcji alergicznej we łzach występują przeciwciała IgE i wysokie stężenie tryptazy, a także interleukiny 4 (IL-4, interleukin 4) [6,14]. Reakcja opóźniona jest zależna od

dawki. Niskie stężenia antygeny powodują wystąpienie natychmiastowej nadwrażliwości z charakterystycznymi objawami klinicznymi, obecnością neutrofilów i eozynofili w zeskrabinach spojówkowych. Ta reakcja następnie stopniowo wygasa i zanika w ciągu godziny po prowokacji. Wysoka dawka antygeny wywołuje intensywną reakcję kliniczną z wyraźnym naciekiem neutrofilowym, a objawy utrzymują się znacznie dłużej i zanikają po 24-48 godzinach [1,2].

Dotychczas opublikowane wyniki badań dotyczących wykorzystania CPT jako narzędzia diagnostycznego obejmują zarówno powszechne aeroalergeny [15,16] jak też te o mniejszym znaczeniu klinicznym [16,17]. Robaina i wsp. przeprowadzili próbę prowokacji u chorych na alergiczne zapalenie błony śluzowej nosa i spojówek i/lub astmę oskrzelową wykorzystując alergeny *Blomia tropicalis* i *Dermatophagoides pteronyssinus*, oceniając reakcję krzyżową pomiędzy tymi alergenami [16]. Alergeny roztoczy kurzu domowego *Dermatophagoides pteronyssinus* i *Dermatophagoides farinae* wykorzystali przy wykonaniu CPT także Mortemousque i wsp. do oceny skuteczności i bezpieczeń-

stwa stosowania swoistej immunoterapii podjęzykowej u osób z całorocznym zapaleniem spojówek powodowanym przez ww. alergeny [15]. Ciprandi i wsp. wykonując CPT wykorzystali alergeny *Dermatophagoides pteronyssinus* lub *Parietaria judaica* w ocenie nadreaktywności na histaminę u osób z alergicznym zapaleniem spojówek [18]. Brito i wsp. poszukując uczulającego alergenu przeprowadził CPT wykorzystując alergen *Vitis vinifera* u chorego na alergiczne zapalenie błony śluzowej nosa i spojówek oraz astmę oskrzelową uczulonego na pyłek winorośli [17]. Reijula i wsp. zastosowali alergeny *Alternaria alternata* i *Cladosporium herbarium* u chorych z objawami zapalenia błony śluzowej nosa i spojówek [19]. W ostatnich latach coraz częściej do wykonania badania wykorzystuje się rekombinowane cząsteczki alergenów (np. izoformy rBetv1a i rBetv1d) [20]. Ale pomimo szerokiego zastosowania CPT w diagnostyce alergicznych chorób narządu wzroku nie udało się stworzyć jednolitego schematu postępowania. Konieczne jest zatem prowadzenie dalszych badań, które umożliwią opracowanie „złotego standardu” umożliwiającego prawidłową ocenę reakcji alergiczno-zapalnej.

Piśmiennictwo

- Melillo G, Bonini S, Cocco G i wsp. EAACI provocation tests with allergens. Report prepared by the European Academy of Allergology and Clinical Immunology Subcommittee on provocation tests with allergens. *Allergy* 1997; 52: 1-35.
- Bacon AS, Ahluwalia P, Irani AM i wsp. Tear and conjunctival changes during the allergen-induced early- and late-phase responses. *J Allergy Clin Immunol* 2000; 106: 948-54.
- Valovirta E, Jacobson L, Ljorring C i wsp. Clinical efficacy and safety of sublingual immunotherapy with tree pollen extract in children. *Allergy* 2006; 61: 1177-83.
- Chelmińska M, Niedoszytko M, Jassem E. Clinical value of conjunctival allergen challenge in diagnosing allergic conjunctivitis related to latex. *Int Arch Allergy Immunol* 2011; 154: 149-54.
- Pérez E, Blanco C, Bartolomé B i wsp. Occupational rhinoconjunctivitis and bronchial asthma due to *Acalypha wilkesiana* allergy. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2006; 96: 719-22.
- Vesaluoma M, Rosenberg ME, Teppo AM i wsp. Tumor necrosis factor alpha (TNF α) in tears of atopic patients after conjunctival allergen challenge. *Clin Exp Allergy* 1999; 29: 537-42.
- Abelson MB, Howes J, Geprge M. The conjunctival provocation test model of ocular allergy: utility for assessment of an ocular corticosteroid, loteprednol etabonate. *J Ocul Pharmacol Ther* 1998; 14: 533-42.
- Yoshihiro D, Tadao E, Lei Ch i wsp. Effect of antihistamine eye drops on the conjunctival provocation test with *Japanese cedar* pollen allergen. *Allergology International* 2006; 55: 373-8.
- Mortemousque B, Fauquert JL, Chiambaretta F i wsp. Conjunctival provocation test: recommendations. *J Fr Ophthalmol* 2006; 29: 837-46.
- Abelson MB, Chambers WA, Smith LM. Conjunctival allergen challenge: a clinical approach to studying allergic conjunctivitis. *Arch Ophthalmol* 1990; 108: 84-8.
- Usowska A, Rapiejko P. Alergiczne zapalenie spojówek. *Terapia* 2001; 3: 12-23.
- Riechelmann H, Epple B, Gropper G. Comparison of conjunctival and nasal provocation test in allergic rhinitis to house dust mite. *Int Arch Allergy Immunol* 2003; 130: 51-9.
- Abelson MB, George MA, Garofalo Ch. Differential diagnosis of ocular allergic disorders. *Ann Allergy* 1993; 70: 95-109.
- Zaleska-Żmijewska A, Szaflik J. Objawy i leczenie alergii narządu wzroku. *Alergia* 2006; 2: 10-12, 15-16.
- Mortemousque B, Bertel F, De Casamayor J i wsp. House-dust mite sublingual-swallow immunotherapy in perennial conjunctivitis: a double-blind, placebo-controlled study. *Clin Exp Allergy* 2003; 33: 464-9.
- Garcia Robaina JC, Sanchez Machin I, Fernandez Caldas E i wsp. Skin Tests and Conjunctival and Bronchial Challenges with Extracts of *Blomia tropicalis* and *Dermatophagoides pteronyssinus* in Patients with Allergic Asthma and/or Rhinoconjunctivitis. *Int Arch Allergy Immunol* 2003; 131: 182-8.
- Feo Brito F, Martinez A, Palacios R i wsp. Rhinoconjunctivitis and asthma caused by vine pollen: A case report. *J Allergy Clin Immunol* 1999; 103: 262-6.
- Ciprandi G, Buscaglia S, Pesce P i wsp. Ocular challenge and hyperresponsiveness to histamine in patients with allergic conjunctivitis. *J Allergy Clin Immunol* 1993; 91: 1227-30.
- Reijula K, Leino M, Mussalo-Rauhamaa H i wsp. IgE-mediated allergy to fungal allergens in Finland with special reference to *Alternaria alternata* and *Cladosporium herbarum*. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2003; 91: 280-5.
- Van Hage-Hamsten M, Pauli G. Provocation testing with recombinant allergens. *Methods* 2004; 32: 281-91.