Spojówkowy test prowokacyjny z alergenem (CPT) – czy możliwa jest standaryzacja metody?

Conjunctival Provocation Test (CPT) with an allergen – is it possible to standardize the method?

dr n. med. Ewa Świebocka[1], prof. dr hab. n. med. Zenon Siergiejko[2]
1. Zakład Alergologii Dziecięcej Akademii Medycznej w Białymstoku
Kierownik Zakładu: prof. dr hab. n. med. Jerzy Hofman
2. Samodzielna Pracownia Diagnostyki Układu Oddechowego i Bronchoskopii Akademii Medycznej w Białymstoku
Kierownik Pracowni: prof. dr hab. n. med. Zenon Siergiejko

For non-commercial use only

Streszczenie: Autorzy na podstawie przeglądu literatury i doświadczeń własnych spróbowali podsumować stan wiedzy na temat spojówkowych testów prowokacyjnych. Pokazali różnorodność technik, stosowanych alergenów i kryteriów uznania wyniku testu za dodatni. Podkreślili potrzebę standaryzacji metody, jednak w podsumowaniu zauważyli, że cel ten nie wydaje się łatwy do spełnienia.

Abstract: Authors on the ground literature review and own experiences have tried to sum up knowledge on conjunctival provocative tests. They have shown the variety the techniques, the used allergens and criterions of acknowledgement of result test for positive. They underlined the need of standardization of method summing up that aim does not it seem to be easy to fulfill.

Słowa kluczowe: alergen, spojówkowy test prowokacyjny, pyłkowica
Key words: allergen, conjunctival provocative test, pollinosis

W ostatnich latach obserwuje się wzrastającą częstość występowania chorób alergicznych w populacji ludzkiej. Spojówka oka ze względu na stałe narażenie na działanie różnych substancji z otoczenia jest jednym z narządów dotkniętych alergią. Alergiczne zapalenie spojówek to rzadko samodzielna jednostka chorobowa, zazwyczaj jest objawem alergii wielonarządowej towarzyszącej: astmie, alergicznemu nieżytowi nosa, atopowemu zapaleniu skóry lub alergii pokarmowej [1]. Osoby o skłonnościach atopowych zazwyczaj mają podwyższone stężenie IgE również we łzach, a więc spojówka jest dobrym miejscem do sprowokowania reakcji alergicznej [2]. Spojówkowe testy prowokacyjne (CPT) mogą być istotnym uzupełnieniem diagnostyki alergologicznej. Ich istotą jest wywołanie miejscowej reakcji alergicznej przez podawanie do worka spojówkowego podejrzanego alergenu w coraz wyższych stężeniach. CPT jest metodą, która dobrze naśladuje naturalną ekspozycję i jednocześnie jest mniej pracochłonna oraz mniej obciążająca dla pacjenta w porównaniu z innymi próbami prowokacyjnymi, a zwłaszcza testami oskrzelowymi. Bezpieczeństwo tego testu wiąże się z faktem, że w przypadku nadmiernej reakcji możliwe i łatwe jest wypłukanie nadmiaru alergenu za pomocą roztworu soli fizjologicznej. Tego

Alergoprofil 2007, Vol. 3, Nr 4, 7-11
Pracę nadesłano: 2008-01-14
Zaakceptowano do druku: 2008-01-15

© Medical Education. For private and non-commercial use only. Downloaded from https://www.journalsmededu.pl/index.php/alergoprofil: 02.07.2025; 17:45,29
„Copyright by Medical Education"

typu manewru pozbycia się alergenu prowokującego nie można wykonać w czasie innych testów prowokacyjnych, tj. skórnego, użądlenia, oskrzelowego lub pokarmowego. W związku z powyższym jego bezpieczeństwo wydaje się być nawet większe niż testu nosowego. Przydatność CPT jako metody diagnostyczno-badawczej jest niewątpliwa [3, 4]. Dotychczas ukazało się mnóstwo prac opartych na wynikach CPT [4–7]. Badacze stosowali bardzo różne procedury prowokacji, wykonywali je z różnych wskazań, używali różnych substancji oraz alergenów różnie standaryzowanych, technika wykonania i interpretacja wyników także nie były jednorodne [8–11].

Celem pracy jest próba przedstawienia kilku metod dotychczas przeprowadzonych prowokacji spojówkowych oraz zasad interpretacji ich wyników, a także zwrócenie uwagi na konieczność standaryzacji metody, aby wyniki uzyskane w różnych pracowniach były porównywalne.

Wskazania do przeprowadzenia CPT z alergenem są dość szerokie, począwszy od diagnostycznych przez monitorowanie skuteczności różnych metod terapeutycznych, przekonywanie chorych do potrzeby unikania określonych alergenów lub poddania się uciążliwej procedurze immunoterapii swoistej, kończąc na dociekaniach patogenetycznych (tab. 1) [1, 4, 5].

Oprócz wskazań oczywiście mogą istnieć także przeciwwskazania, tj. sytuacje, w których wykonywanie badania mogłoby w różny sposób zagrozić zdrowiu badanego lub fałszować wyniki testu (tab. 1).

Z reguły badanie wykonuje się w okresie, kiedy pacjent jest wolny od dolegliwości, a w przypadku pyłkowicy poza sezonem pylenia roślin. Niekiedy ocenę skuteczności działania nowych preparatów stosowanych w sezonowym zapaleniu spojówek przeprowadza się w okresie zwiększonej gotowości do wystąpienia objawów chorobowych (np. tuż po okresie ekspozycji naturalnej). Podobnie jak w czasie innych testów prowokacyjnych w celu uniknięcia odczynów fałszywie dodatnich lub nadmiernie nasilonych osoba badana w czasie testu powinna nie mieć infekcji oraz przynajmniej 24 godz. wcześniej nie być narażona na kontakt z alergenem. Niektóre leki mogą także maskować reakcję alergiczną, dlatego ważne jest odstawienie ich na tyle wcześniej przed testem, aby wynik badania był wiarygodny (tab. 2).

Z przeglądu literatury wynika, że do przeprowadzania CPT używa się wyciągów alergenów pochodzących od różnych producentów i różnie standaryzowanych, są one zatem nieporównywalne, zwłaszcza że stosuje się odmienne rozcieńczenia (tab. 3). Kryteria wymagane do uznania wyniku testu za dodatni różnią się u poszczególnych badaczy (tab. 4).

W naszej pracowni do różnych testów prowokacyjnych używane są łatwo dostępne w Polsce alergeny firmy Allergopharma, a stosowana procedura została przedstawiona poniżej i jest zbliżona do opisanej przez Lipiec i wsp. [5].

Tabela 1. *Wskazania i przeciwwskazania do wykonywania spojówkowych testów prowokacyjnych z alergenem.*

Wskazania	Przeciwwskazania
1) Ustalenie patogennego alergenu, zwłaszcza w przypadku rozbieżności między objawami, wynikami testów skórnych i specyficznymi IgE. 2) Potwierdzenie znaczenia klinicznego danego alergenu w wywoływaniu objawów chorobowych. 3) Odtworzenie obrazu klinicznego choroby. 4) Kwalifikacja do immunoterapii swoistej, a także pomoc w doborze właściwej szczepionki. 5) Ocena skuteczności immunoterapii swoistej. 6) Diagnostyka objawów związanych z narażeniem zawodowym. 7) Badania naukowe: - oceniające przebieg reakcji alergologiczno-zapalnej, - dotyczące mechanizmów działania i efektywności klinicznej leków wpływających na przebieg reakcji alergicznej oka.	1) Wszystkie choroby oczu (np. jaskra, zaćma, zapalenie spojówek, zapalenie tęczówki) z wyjątkiem wad refrakcyjnych (np. krótkowzroczność, nadwzroczność) i alergicznego zapalenia spojówek. 2) CPT nie mogą być wykonywane u pacjentów aktualnie używających szkieł kontaktowych (pacjent powinien nosić okulary dzień przed i po CPT). 3) Ciężkie postacie chorób ogólnoustrojowych, np. zaawansowana choroba niedokrwienna serca. 4) Ciąża. 5) Uogólniona reakcja anafilaktyczna w wywiadzie. 6) Brak zachowania poprawności procedury.

Tabela 2. *Wymagane okresy odstawienia leków przed CPT.*

Leki	Krople do oczu	Tabletki
Antyhistaminowe	24 h	1 tydzień
Kromoglikany	12 h	1 tydzień
Glikokortykosteroidy	24 h	1 tydzień

Procedura CPT z użyciem alergenów do testów prowokacyjnych firmy Allergopharma (Niemcy)

Przygotowywane są następujące stężenia alergenu: 5 000, 1 600, 500, 150, 50 i 5 SBU/ml (SBU,

© Medical Education. For private and non-commercial use only. Downloaded from https://www.journalsmededu.pl/index.php/alergoprofil: 02.07.2025; 17:45,29

Tabela 3. *Różne prezentowane w literaturze metody przygotowania kolejnych roztworów alergenów z najczęściej używanych wyciągów komercyjnych pochodzących od różnych producentów.*

ALK ABELLO	ALLERGOPHARMA	STALLERGEN
Aquagen Diluent 100000SQU/ml **1. Rozcieńczenia 10-krotne:** – 5 stężeń z fenolem) 10-10 0000 SQ-u/ml [8, 9, 10] – 3 stężenia 100, 1 000 i 10 000 SQU/ml **2. Rozcieńczenia 5-krotne:** – 5 stężeń z fenolem) 160; 800; 4 000; 20 000; 100000 SQ-U/ml [13] – 6 stężeń z fenolem) 32; 160; 800; 4 000; 20 000; 100 000 SQ-U/ml [11]	**Alergeny do testów prowokacyjnych 5 000 SBU/ml** kolejne rozcieńczenia w systemie półlogarytmicznym (factor 3,2), (6 stężeń z fenolem): 5; 50; 160; 500; 1 600; 5 000 SBU/ml [5].	**Alergeny do testów prowokacyjnych 100 RI/ml** kolejne rozcieńczenia w systemie półlogarytmicznym (factor 3,2), (5 stężeń bez fenolu: 1,2; 3,7; 11; 33; 100 RI/ml) [12]

Tabela 4. *Zestawienie różnych kryteriów klinicznych używanych do oceny spojówkowych testów prowokacyjnych. Skala objawów ocznych:*

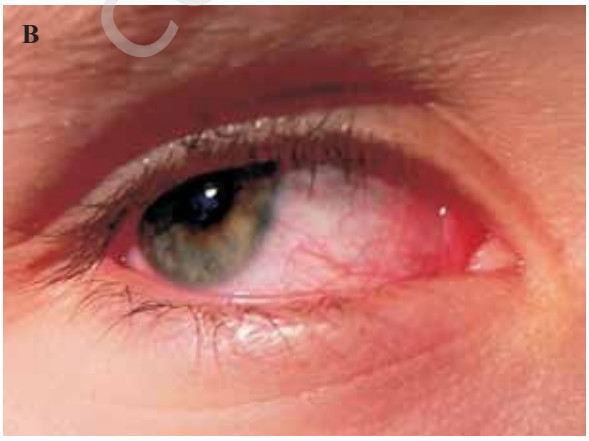
Abelson [21]	Reichelmann [22]	Möller [11]
– Zaczerwienienie spojówek 0 – brak 1 – lekkie 2 – umiarkowane 3 – bardzo nasilone **– Chemosis (nacieczenie spojówki)** 0 – brak 1 – delikatnie wyrażone (stwierdzane w lampie szczelinowej, spojówka odgraniczona od twardówki) 2 – umiarkowane (wyraźnie widoczne, spojówka uniesiona w dolnej części) 3 – ciężkie (obrzęk spojówki) **– Łzawienie** 0 – brak 1 – lekkie 2 – umiarkowane (zawilgocenie w nosie) 3 – ciężkie (łzy wypływają na policzki) **– Świąd (oceniany przez pacjenta)** 0 – brak 1 – lekki 2 – umiarkowany – odczuwany ciągle, ale niewymagający pocierania oczu 3 – nasilony – odczuwany ciągle i zmuszający do pocierania oczu 4 – nieznośny ból (nieodparta chęć pocierania oczu) Wynik testu uznaje się za dodatni, jeżeli suma objawów ≥4.	0 – brak subiektywnej reakcji i widocznych objawów I – swędzenie, uczucie obecności ciała obcego, zaczerwienienie II – stopień I oraz dodatkowo: łzawienie, nastrzyknięcie spojówki gałki ocznej i mięska III – stopień II oraz dodatkowo: nacieczenie spojówki tarczki i światłowstręt IV – stopień III oraz dodatkowo: obrzękowe nacieczenie spojówki (chemoza) i obrzęk powiek Wynik testu uznaje się za dodatni, jeśli objawy odpowiadają co najmniej II stopniowi.	**Zaczerwienienie, łzawienie, świąd lub pieczenie, wydzielina z nosa, blokada nosa** 0 – brak objawów 1 – objawy słabo nasilone 2 – objawy średnio nasilone 3 – objawy nasilone Wynik testu uznaje się za dodatni, jeśli suma objawów ≥5 punktów.

Standard Biologic Unit). Najwyższe stężenie, zgodnie z zaleceniami producenta, po rozcieńczeniu w warunkach jałowych może być przechowywane przez 14 dni, natomiast niższe muszą zostać przygotowane w dniu badania. Przed testem pacjent aklimatyzuje się przez ok. 10 min. W tym czasie zbierany jest wywiad dotyczący infekcji, stosowanych leków, kontaktu z alergenem oraz oglądane są spojówki (testu nie należy wykonywać, jeżeli występują objawy ich podrażnienia). Podczas testu pacjent powinien siedzieć z głową odchyloną do tyłu. Test rozpoczyna się zakropleniem jednej kropli stosowanego rozcieńczalnika do dolnego worka spojówkowego (fenol zawarty w rozpuszczalniku może wywołać przejściowe podrażnienie, które ustępuje po kilku minutach). Jeżeli w ciągu 10 min nie wystąpi wyraźna reakcja, zakrapla się 1 kroplę najniższego stężenia alergenu do drugiego oka. Następnie sukcesywnie zakraplane są coraz wyższe stężenia alergenu naprzemiennie raz do jednego, a następnie do drugiego worka spojówkowego aż do czasu wystąpienia reakcji dodatniej lub osiągnięcia najwyższego z przygotowanych stężeń.

© Medical Education. For private and non-commercial use only. Downloaded from https://www.journalsmededu.pl/index.php/alergoprofil: 02.07.2025; 17:45,29

Wynik testu za dodatni uznaje się w sytuacji, gdy przynajmniej połowa spojówki jest nastrzyknięta (zaczerwienienie, świąd i cechy podrażnienia). W przypadku reakcji wątpliwej podaje się wyższe stężenie. Jeżeli wyższe stężenie daje reakcję wyraźnie dodatnią, poprzednia próba (wątpliwa) powinna być uznana za dodatnią. W przypadku, gdy wyższe stężenie daje reakcję ujemną, to poprzednią, wątpliwą próbę także należy uznać za ujemną. Przykładowe zdjęcia dodatniego testu spojówkowego przedstawiono na rycinie 1.

Rycina 1. *Przykład dodatniego wyniku spojówkowego testu prowokacyjnego z alergenem:*
A – Oko przed rozpoczęciem CPT.
B – Dodatni wynik testu.
(Fotografie ze zbiorów własnych autorów).



Jeśli na koniec testu objawy są znacznie nasilone, można zastosować płukanie worka spojówkowego i/lub podać lek przeciwhistaminowy w postaci kropli do oczu (np. Emadine, Rhinophenazol ophtalm, Alergoftal itp.). Natomiast jeżeli celem jest dalsze śledzenie przebiegu reakcji alergicznej, to podawanie jakichkolwiek leków w trakcie badania nie jest wskazane.

Próbowano także przeprowadzać nieswoiste spojówkowe testy prowokacyjne z: kodeiną, związkiem 48/80, histaminą [14–17]. W badaniach nowych leków test spojówkowy niekiedy wykonywany jest do jednego oka, drugie traktuje się jako kontrolę, a badane leki podawane są do obu worków spojówkowych [18]. W różnych badaniach naukowych oprócz kryteriów dodatniego testu przedstawionych w tabeli 4 próbowano wykorzystać także inne kryteria:

- pomiar temperatury oka – metody termowizyjne,
- badania cytologiczne,
- ocena stężenia mediatorów reakcji alergicznej we łzach lub w popłuczynach (*lavage*) z oka [19, 20].

Co do stopnia nasilenia objawów klinicznych, to nie wszyscy autorzy bezkrytycznie przyjmowali skale przedstawione w tabeli 4 i niekiedy próbowali modyfikować je według własnego uznania. Przykładem tego są prace Mortemousque i wsp., którzy używali skali Abelson, a wynik testu uznawali za dodatni, jeśli *score* objawów miał co najmniej 5 punktów, a zaczerwienienie i świąd były ocenione na co najmniej 2 [9, 10].

Procedury u różnych autorów różnią się także czasem od momentu zakroplenia alergenu do oceny objawów. I tak, według Abelson jest to 3, 10 i 20 min, natomiast według Mortemousque 5, 10 i 15 min, a jeśli wynik jest dodatni, to jeszcze 60 min.

Jak wynika z powyższych danych, daleko jeszcze do przyjęcia jednolitej procedury przeprowadzania CPT. Nasuwa się nawet pytanie, czy to w ogóle jest możliwe. Jeżeli prześledzimy przebieg standaryzacji innych testów prowokacyjnych, to zauważymy, że udało się tego dokonać jedynie w odniesieniu do dwóch metod nieswoistych oskrzelowych testów prowokacyjnych z histaminą lub metacholiną i wysiłkiem fizycznym [23]. Dotychczas nie udało się przyjąć jednolitego stanowiska odnośnie przeprowadzania oskrzelowych testów prowokacyjnych z alergenem, chociaż kilkakrotnie próbowano to uczynić. Próby te rozbijały się o kilka problemów, które wydają się nie do pokonania, a mianowicie:

- brak jednolitej standaryzacji alergenów do prowokacji,
- brak jednolitej metody inhalacji alergenu.

Odnośnie CPT takich rozbieżnych poglądów jest jeszcze więcej, bo nie ma nawet jednolitego stanowiska, kiedy CPT uznać za dodatni.

Wniosek:

Pomimo szerokiego zastosowania prób prowokacji spojówkowej z alergenem nie udało się dotychczas stworzyć jednolitego schematu postępowania.

© Medical Education. For private and non-commercial use only. Downloaded from https://www.journalsmededu.pl/index.php/alergoprofil: 02.07.2025; 17:45,29

Chociaż opracowanie konsensusu umożliwiającego standaryzację CPT jest konieczne, to osiągnięcie celu nie wydaje się być bliskie.

Piśmiennictwo:

1. *Stanowisko Grupy Ekspertów Polskiego Towarzystwa Alergologicznego i Polskiego Towarzystwa Okulistycznego w sprawie diagnostyki i leczenia alergicznych chorób oczu. 2007.*
2. *Leonardi A., Battista M.C., Gismondi M., Fregona I.A., Secchi A.G.: Antigen sensitivity evaluated by tear-specific and serum-specyfic IgE, skin test, and conjunctival and nasal provocation test in patients with ocular allergic disease. Eye 1993, 7(3): 461-464.*
3. *Bonini S., Bonini S., Berruto A., Tomassini M., Carlesimo S., Bucci M.G., Balsano F.: Conjunctival provocation test as a model for the study of allergy and inflammation in humans. Int. Arch. Allergy Appl. Immunol. 1989, 88(1-2): 144-148.*
4. *Jutel M., Jaeger L., Suck R., Meyer H., Math D., Fiebig H., Cromwell O.: Allergen-specyfic immunotherapy with recombinant grass pollen allergens. J. Allergy Clin. Immunol. 2005, 116(3): 608-613.*
5. *Lipiec A., Rapiejko P., Samoliński B., Krzych B.: Correlation between conjunctival provocation test results and conjunctival symptoms in pollinosis - preliminary report. Ann. Agric. Environ. Med. 2005, 12: 17-20.*
6. *Nunez J.A., Cuesta U.: Local conjunctival immunotherapy: the effect of dermathohagoides pteronyssinus local conjunctival immunotherapy on conjunctival provocation test in patiens with allergic conjunctivitis. Allergol. Immunopathol. 2000, 28(6): 301-306.*
7. *Garcia-Ortega P., Costa B., Richart C.: Evaluation of the conjunctival provocation test in allergy diagnosis. Clin. Exp. Allergy 1989, 19(5): 529-32.*
8. *Pichler C.E., Helbling A., Pichler W.J.: Three years of specific immunotherapy with house-dust-mite extracts in patients with rhinitis and asthma: significant improvement of allergen-specific parameters and of nonspecific bronchial hyperreactivity. Allergy 2001, 56: 301-306.*
9. *Mortemousque B., Fauquert J.L., Chiambaretta F., Demoly P., Helleboid L., Creuzot-Garcher C., Bremond-Gignac D.: Conjunctival provocation test: recommendations. J. Fr. Ophtalmol. 2006, 29(7): 837-846.*
10. *Mortemousque B.: Conjuctival provocation test. J. Fr. Ophtalmol. 2007, 30(3): 300-305.*
11. *Moller C., Bjorkestein B., Nilsson G., Dreborg S.: The precision of conjunctival provocation test. Allergy 1984, 39: 37-41.*
12. *Bertel F., Mortemousque B., Sicard H., Andre C.: Test de provocation conjonctival au Dermatophagod'des pteronyssinus dans le diagnostic des conjonctivites allergiques aux acariens domestiques. Journal Français d'Ophtalmologie 2001, 24 (6): 581.*
13. *Radcliffe M.J., Lewith G., Prescott P., Church M.K., Holgate S.T.: Do skin prick and conjunctival provocation test predict symptom severity in seasonal allergic rhinoconjunctivitis? Clin. Exp. Allergy 2006, 36: 1488-1493.*
14. *Mita H., Sakuma Y., Shida T., Akiyama K.: Release of chemical mediators in the conjuctival lavage fuids after eye provocation with allergen or compound 48/80. Arerugi 1994, 43(7): 800-808.*
15. *Campbell A.M., Demoly P., Michel F.B., Bousquet J.: Conjunctival provocation test with codeine phosphate. Effect disodium cromoglycate. Ann. Allergy 1993, 71(1): 51-55.*
16. *Ciprandi G., Buscaglia S., Pesce P., Bagnasco M., Canonica G.W.: Ocular challenge and hyperresponsiveness to histamine in patients with allergic conjunctivitis. J. Allergy Clin. Immonol. 1993, 91: 1227-1230.*
17. *Sacchetti M., Lambiase A., Aronni S., Griggi T., Ribatti V., Bonini S., Bonini S.: Hyperosmolar conjunctival provocation for the evaluation of nonspecific hyprerreactivity in healthy patients with allergy. J. Allergy Clin. Immunol. 2006, 118(4): 872-877.*
18. *Mortemousque B., Jackuet A., Richard C., Depont F., Colin J., Moore N.: Randomized double mask trial comparing the efficacy and tolerance of 0,05% mequitazine eye drops versus 0,05% levocabastine and placebo in allergic conjunctivitis induced by a conjunctivitis induced by a conjuncival provocation test with Dermatophagoides pteronyssinus. Br. J. Ophtalmol. 2004, 88: 336-340.*
19. *Rimas M., Gustafsson P.M., Kjellman N.I., Bjorktsten B.: Conjunctival provocation test: high clinical reproducibility but little local temperature change. Allergy 1992, 47(4Pt 1): 324-326.*
20. *Bonini S., Bonini S., Vecchione A., Naim D.M., Allansmith M.R., Balsano F.: Inflammmatory changes in conjunctival scrapings after allergen provocation in humans. J. Allergy Clin. Immunol. 1988, 82(3 Pt 1): 141-142.*
21. *Abelson M.B., Chambers W.A., Smith L.M.: Conjunctival allergen challenge. A clinical approach to studying allergic conjunctivitis. Arch. Ophtalmol. 1990, 108(1): 84-88.*
22. *Riechelmann H., Epple B., Grroper G.: Comparison of conjunctival and nasal provocation test in allergic rhinitis to house dust mite. Int. Arch. Allergy Immunol. 2003: 130: 51-59.*
23. *ATS – Guidelines for methacholine and excercise challenge testing – 1999. Am. J. Respir. Crit. Care Med. 2000, 161: 309-239.*

Adres autorki:

dr n. med. Ewa Świebocka

Zakład Alergologii Dziecięcej AM w Białymstoku

15-274 Białystok, ul. Waszyngtona 17

tel.: (0) 603-435-607

e-mail: spduoib@amb.edu.pl

© Medical Education. For private and non-commercial use only. Downloaded from https://www.journalsmededu.pl/index.php/alergoprofil: 02.07.2025; 17:45,29