

Porównanie wyników punktowych testów skórnych wykonywanych za pomocą standaryzowanego lancetu oraz igły iniekcyjnej

ALEKSANDRA SEMIK-ORZECZ, ADAM BARCZYK, WŁADYSŁAW PIERZCHAŁA

Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, Katedra i Klinika Pneumonologii, kierownik: prof. dr hab. med. W. Pierzchała

Porównanie wyników punktowych testów skórnych wykonywanych za pomocą standaryzowanego lancetu oraz igły iniekcyjnej

Semik-Orzech A., Barczyk A., Pierzchała W.

Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, Katedra i Klinika Pneumonologii, e-mail: pneumo@slam.katowice.pl

Uzyskanie powtarzalnych wyników w metodzie punktowych testów skórnych (PTS) jest uzależnione od doświadczenia wykonującego test, głębokości penetracji powierzchniowych warstw skóry przez zastosowane urządzenie oraz ograniczenia liczby wyników fałszywie dodatnich związanych z zanieczyszczeniem urządzenia przez wcześniej nakłuwany roztwór alergenu.

Cel badania. Porównanie wyników PTS przeprowadzonych przy użyciu nowej igły iniekcyjnej oraz nowego lancetu dla każdego nakłucia z wynikami uzyskanymi po wielokrotnym zastosowaniu tej samej igły płukanej w alkoholu.

Materiał i metody. Do badania włączono 20 chorych na alergiczny nieżyt nosa (ANN) z potwierdzonym uczuleniem na pyłki traw i zbóż oraz 10 zdrowych ochotników. Punktowe testy skórne wykonywano na dłoniowej powierzchni przedramienia w trakcie dwóch kolejnych wizyt, w czasie których zachowywano stałą kolejność nakrapiania roztworów histaminy, alergenu oraz soli fizjologicznej (Allergopharma, Reinbeck, Germany). Podczas pierwszej wizyty każde nakłucie było wykonywane za pomocą nowego urządzenia: igły iniekcyjnej na jednym przedramieniu i lancetu na drugim. Po upływie 4 tygodni porównywano wyniki PTS po użyciu do każdego nakłucia nowej igły iniekcyjnej (na jednym przedramieniu) z wynikami po użyciu tej samej igły płukanej w alkoholu (na drugim przedramieniu).

Wyniki. Pomiędzy zastosowanymi metodami nie stwierdzono istotnej statystycznie różnicy w wielkości odczynów dla: histaminy ($p=0,50$), soli fizjologicznej ($p=1$) oraz alergenu ($p=0,54$) w grupie chorych na ANN oraz dla: histaminy ($p=0,41$) i soli fizjologicznej ($p=1$) w grupie kontrolnej. Analiza wielkości odczynów uzyskanych dla roztworu histaminy i alergenu w poszczególnych metodach w grupie chorych na ANN wykazała, że metody te nie różnią się istotnie pod względem powtarzalności uzyskiwanych wyników (CV%): poziom istotności różnic pomiędzy CV% dla histaminy w poszczególnych metodach: $p=0,73$; poziom istotności różnic pomiędzy CV% dla alergenu w poszczególnych metodach: $p=0,32$.

Wnioski. Wyniki PTS, w których roztwory testowe są nakłuwane za pomocą tej samej igły iniekcyjnej dokładnie płukanej w alkoholu, charakteryzują się podobną jakością, przy znacznie niższej cenie w stosunku do innych metod, w których wykorzystywany jest wielokrotnie zmieniany standaryzowany lancet lub igły iniekcyjne.

Słowa kluczowe: punktowe testy skórne, choroby alergiczne, metodologia

Pol. Merk. Lek., 2008, XXIV, 144, 495

The comparison of reactions in skin prick test performed with the standardized lancet and the injection needle

Semik-Orzech A., Barczyk A., Pierzchała W.

Silesian Medical University, Katowice, Poland, Pulmonology Department, e-mail: pneumo@slam.katowice.pl

Achieving reproducible results with the skin prick test method depends on a certain amount of experience, the depth of skin penetration by the device which is used and reducing the number of false positive reactions caused by contamination of the device by allergen extract previously pricked.

The aim of the study was to compare the results of SPT performed with "single puncture device" using lancet or injection needle with "multiple puncture device" using the same needle wiped in alcohol between pricks.

Material and methods. Twenty adult patients with seasonal allergic rhinitis with known sensitivity to grass pollen allergen and ten control subjects entered the study. SPT were applied to the volar surface of both forearms on two separate visits during which fixed sequence of pricking histamine, allergen and saline solutions (Allergopharma, Reinbeck, Germany) was maintained. On the first visit new device was used for each prick: injection needles on one forearm and lancets on the other. On a second visit (after a wash-out period of 4 weeks) injection needle changed between each prick on one forearm was compared with using the same needle wiped in alcohol between pricks on the other forearm.

Results. There was no statistical difference between the three tested methods for the size of wheel to histamine ($p=0.5$), saline ($p=1$) and allergen ($p=0.54$) in group of SAR patients as well as for the size of wheel to histamine ($p=0.41$) and saline ($p=1$) in control subjects. Analysis of wheel diameters for histamine and allergen in group of SAR patients demonstrated comparable degrees of precision for all tested methods (CV%): there was no statistical difference between CV% achieved for the size of histamine ($p=0.73$); as well as for allergen wheal ($p=0.32$).

Conclusions. The results of SPT achieved by using only one injection needle rinsed in alcohol for multiple pricks seem to have similar quality, being more economical than standard techniques in which puncture device is changed between each test.

Key words: skin prick tests, allergic diseases, methodology

Pol. Merk. Lek., 2008, XXIV, 144, 495

Punktowe testy skórne (PTS) są podstawowym badaniem stosowanym w diagnostyce nadwrażliwości na powszechnie występujące alergeny środowiskowe [8, 9]. Uzyskiwanie powtarzalnych wyników w tej metodzie jest uzależnione nie tylko od doświadczenia osoby wykonującej, ale również od głębokości penetracji powierzchniowych warstw skóry przez urządzenie zastosowane do wykonania testu oraz ograniczenie liczby wy-

ników fałszywie dodatnich związanych z zanieczyszczeniem urządzenia przez wcześniej nakłuwany roztwór alergenu. Punktowe testy skórne mogą być wykonywane za pomocą standaryzowanego lancetu z 1 mm ostrzem i ogranicznikiem (który gwarantuje penetrację ostrza jedynie do warstwy podnaskórkowej) lub jednorazowej igły iniekcyjnej (której głębokość penetracji do kolejnych warstw skóry uzależniona jest od siły nacisku i do-

świadczania osoby przeprowadzającej test). Europejska Akademia Alergologii i Immunologii Klinicznej zaleca używanie każdorazowo nowego urządzenia nakłuwającego do testowania kolejno nakrapianych roztworów alergenowych [8, 9].

W Polsce, jak również w wielu innych krajach, ze względu na stosunkowo wysoki koszt zakupu standaryzowanych lancetów, w diagnostyce klinicznej powszechnie wykonuje się PTS za pomocą jednorazowych igieł do wstrzyknięć. Powszechnie stosowana jest również procedura wykonywania PTS, w której wszystkie testowane roztwory alergenowe nakłuwane są za pomocą tej samej igły, czyszczonej mechanicznie przed nakłuciem kolejnego alergenu.

Użycie tylko jednego urządzenia nakłuwającego dla testowania kilku różnych roztworów alergenowych wiąże się z obniżeniem kosztów tej procedury oraz skróceniem czasu jej wykonywania, jednak niesie ryzyko zanieczyszczenia igły i przenoszenia na jej powierzchni roztworów testowanych alergenów. Tym samym może zwiększać prawdopodobieństwo wystąpienia reakcji fałszywie dodatnich i zmniejszać powtarzalność uzyskiwanych wyników, co obniża wiarygodność testu [6]. Chociaż umiarkowany stopień powtarzalności wyników uzyskiwanych w PTS jest akceptowalny podczas ich przeprowadzania dla celów epidemiologicznych lub diagnostycznych, niewątpliwie powtarzalność tej metody musi być wysoka podczas procedur standaryzacji oraz w ocenie skuteczności zastosowanego leczenia antyalergicznego [7, 8].

W badaniu przeprowadzonym przez Kupczyk i wsp. udowodniono, że zastosowanie w PTS tylko jednego lancetu plukanego pomiędzy kolejnymi nakłuciami w 75-procentowym etanolu powodowało wystąpienie znamiennej wyższej liczby wyników fałszywie dodatnich w porównaniu ze zastosowaniem nowego lancetu do każdego nakłucia [13]. Autorzy zakwestionowali użyteczność tej metody jako narzędzia identyfikującego czynniki odpowiedzialne za wystąpienie reakcji alergicznej oraz wykluczili jej wiarygodność w badaniach naukowych oraz podczas kwalifikowania do swoistej immunoterapii. Podobne wyniki uzyskali również Piette i wsp., którzy wykazali, że PTS wykonywane za pomocą tego samego urządzenia czyszczonego mechanicznie suchą ligniną przed kolejnym nakłuciem były związane z występowaniem znamiennej liczby odczynów fałszywie dodatnich [17]. Z kolei Adinoff i wsp. wykazali, że wielokrotne zastosowanie w PTS tego samego urządzenia, którego końcówkę przed kolejnym nakłuciem splukiwano alkoholem i dokładnie wycierano, znamienne zmniejszało liczbę wyników fałszywie dodatnich w porównaniu z zastosowaniem tego samego urządzenia niepoddawanego czyszczeniu [3]. Podobne obserwacje poczynili również Santilli i wsp. podczas przeprowadzania PTS u chorych z atopią za pomocą igły iniekcyjnej wielokrotnie poddawanej czyszczeniu [18].

Cele badania

1. Porównanie wartości wyników PTS uzyskiwanych po zastosowaniu standaryzowanego lancetu z 1-milimetrowym ostrzem z wynikami uzyskanymi po zastosowaniu jednorazowej igły do wstrzyknięć.
2. Ocena, czy w metodzie PTS z kilkoma roztworami alergenowymi zastosowanie tylko jednej igły wpływa w istotny sposób na uzyskane wyniki w porównaniu z zastosowaniem nowej igły do nakłucia każdego roztworu.
3. Porównanie powtarzalności wyników PTS wykonywanych z zastosowaniem standaryzowanego lancetu z 1-milimetrowym ostrzem z wynikami uzyskanymi po zastosowaniu nowej jednorazowej igły do wstrzyknięć do każdego nakłucia oraz zastosowaniu tej samej igły do nakłucia wszystkich roztworów.

MATERIAŁ I METODA

Grupa badana

Do badania włączono 20 dorosłych chorych na sezonowy alergiczny nieżyt nosa (ANN) uczulonych na pyłki traw i zbóż (śred-

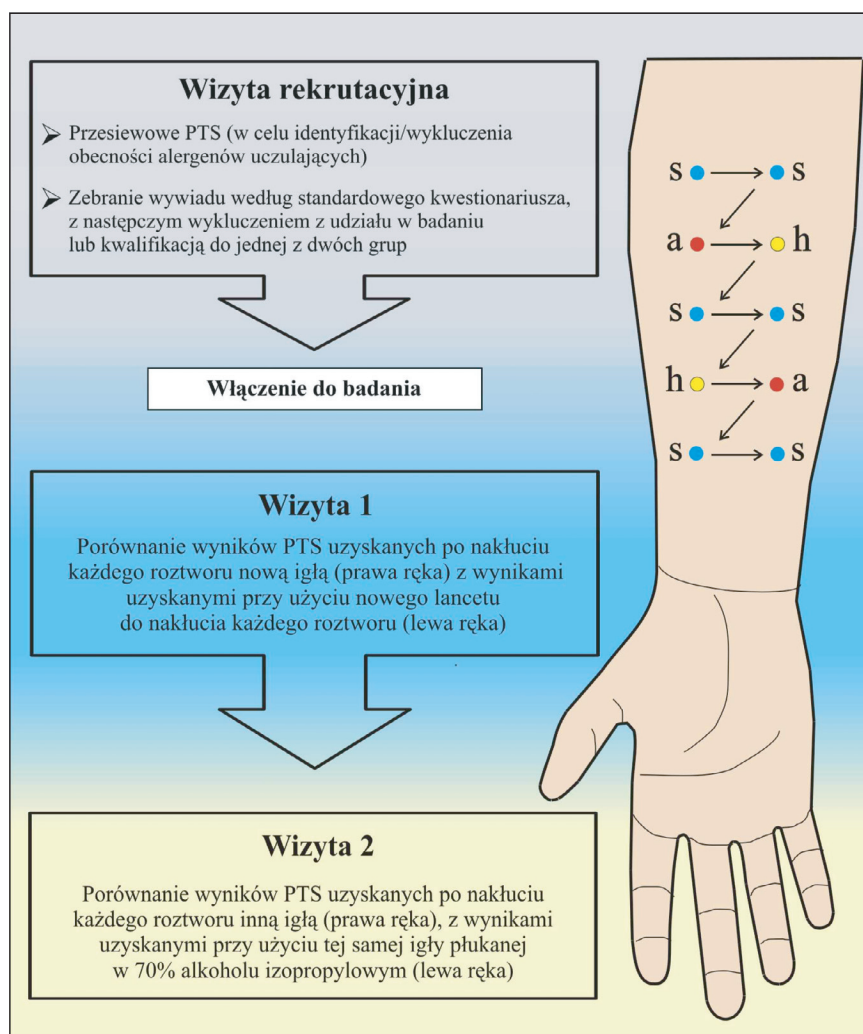
nia wieku: $24,1 \pm 3,7$ lat) oraz 10 dorosłych zdrowych ochotników (średnia wieku: $26,3 \pm 3,0$ lat). U wszystkich chorych na ANN na podstawie wywiadu potwierdzono występowanie objawów alergicznego nieżytu nosa w okresie pylenia traw i zbóż (uczucie „zatkania nosa”, wyciek wodnistej wydzieliny z nosa, napadowe kichanie, świąd nosa w okresie od początku maja do końca czerwca) przez co najmniej dwa kolejne lata oraz dodatni wynik PTS z mieszaną trawy/zboża (odpowiedź 3 mm lub większa). Z badania wyłączono wszystkich chorych na ANN, którzy w przeszłości byli leczeni za pomocą immunoterapii swoistej i stosowali leki wpływające na wynik PTS w czasie krótszym niż wskazany minimalny czas odstawienia (glikokortykosteroidy stosowane: systemowo – 12 tygodni, donosowo i/lub wziewnie – 8 tygodni; leki antyhistaminowe – 2 tygodnie; kromoglikan disodowy, nedokromil i ketotifen – 5 dni, leki stosowane zewnętrznie na powierzchnię skóry w miejscu wykonywania testów – 4 tygodnie). Z badania wyłączono również tych, którzy w czasie krótszym niż 4 tygodnie przed włączeniem do badania przebyli jakąkolwiek infekcję oraz u których w wywiadzie lub w badaniu fizykalnym stwierdzano choroby skóry (w tym szczególnie atopowe zapalenie skóry, alergię kontaktową i dermatografizm).

Metoda

Chorzy zakwalifikowani do jednej z dwóch grup wzięli udział w dwóch kolejnych wizytach, w czasie których PTS wykonywano zgodnie ze schematem przedstawionym na rycinie 1. Punktowe testy skórne przeprowadzano poza sezonem pylenia (listopad-styczeń) w godzinach 9⁰⁰-12⁰⁰, zgodnie z zaleceniami Europejskiej Akademii Alergologii i Immunologii Klinicznej [8, 9]. W badaniu stosowano nakłuwanie wierzchniej warstwy skóry dłoniowej strony przedramienia alternatywnie za pomocą dwóch urządzeń: standaryzowanego lancetu z 1 mm ostrzem firmy Allergopharma (Reinbek, Niemcy) oraz jednorazowej igły do wstrzyknięć „Micropoint” 0,5 × 25. Nakłucie lancetem wykonywano prostopadłe do powierzchni skóry, a nakłucie jednorazową igłą wykonywano za pomocą zmodyfikowanej techniki Pepysa i Bernsteina – pod maksymalnie ostrym kątem, skośnie do powierzchni skóry, następnie igłę lekko unoszono, tak aby pod podrażnioną skórą dostała się mała ilość roztworu testowego.

W protokole badawczym dodatkowo porównano wyniki PTS wykonywanych z zastosowaniem nowej igły iniekcyjnej do nakłucia każdego roztworu z wynikami uzyskanymi za pomocą jednej igły plukanej pomiędzy nakłuciami w 70-procentowym alkoholu izopropylowym (po każdym nakłuciu końcówkę igły starannie wycierano w ligninę nasączoną alkoholem, poprzez wykonanie kilku ruchów wzdłuż długiej osi igły w kierunku ostrza, tak by nie wprowadzić resztek wcześniej testowanego roztworu do jej światła). Zarówno podczas stosowania lancetu, jak i igły nakłucia wykonywano tak, aby nie doprowadzać do krwawienia. Zachowywano stałą odległość 3 cm pomiędzy nakrapianymi roztworami oraz odległość 3 cm od dołu łokciowego i 5 cm od nadgarstka.

Kolejność nakrapiania i nakłuwania roztworów testowych na dłoniowej powierzchni przedramienia w trakcie wizyty 1. i 2. została przedstawiona na rycinie 1. Po 10 minutach od nakłucia roztwory testowe były usuwane za pomocą sterylnej wacika. Wyniki były odczytywane po 10 minutach od nakłucia dla histaminy i po 15 minutach dla pozostałych roztworów testowych. Reakcja pozytywna po wprowadzeniu roztworu histaminy lub alergenu pojawiała się w postaci bąbla o średnicy 3 mm lub większej oraz dowolnej wielkości otoczki rumieniowej. W ocenie wyników PTS uwzględniano jedynie wielkość bąbla. W celu określenia wielkości bąbla mierzono (za pomocą przezroczystej linijki) jego średnicę: najdłuższą oraz prostopadłą do niej. Pomiar sumowano, a następnie, w celu uzyskania średniej średnicy bąbla, uzyskaną sumę dzielono przez dwa i odnotowywano w milimetrach. W badaniu wykorzystano roztwory do punktowych testów skórnych firmy Allergopharma (Reinbek, Niemcy):



Ryc. 1. Schemat protokołu badawczego zastosowanego w pracy*

Fig 1. Scheme of the study design

* Na schemacie dłoniowej powierzchni przedramienia czarnymi strzałkami zaznaczono kolejność nakrapiania oraz nakłuwania roztworów testowych w trakcie wizyty 1. i 2. Zastosowane skróty literowe: s – roztwór soli fizjologicznej (kontrola ujemna), h – roztwór histaminy (kontrola dodatnia), a – roztwór alergenu (mieszanka traw i zbóż), (Semik-Orzech – rycina autorska)

- **alergen** – 1 ml roztworu zawiera: mieszanek alergenów traw i zbóż o stężeniu 50 000 SBU/ml oraz substancje pomocnicze: chlorek sodu – 9 mg, fenol – 2 mg, glicerol – 563 mg i wodę do iniekcji do 1 ml;
- **kontrola ujemna** – roztwór soli fizjologicznej, zawierający w 1 ml: chlorek sodu – 9 mg, fenol – 4 mg, glicerol – 563 mg i wodę do iniekcji do 1 ml;
- **kontrola dodatnia** – roztwór histaminy, zawierający w 1 ml: chlorowodorek histaminy – 1,7 mg, chlorek sodu – 9 mg, fenol 4 – mg, glicerol – 563 mg i wodę do iniekcji do 1 ml.

Analiza statystyczna

Dane demograficzne oraz wyniki PTS zostały wprowadzone do komputerowej bazy danych utworzonej w programie Microsoft Excel 2003. Statystyczną analizę danych przeprowadzono przy użyciu procedur dostępnych w programie Statistica 6.0. Normalność rozkładu badanych zmiennych ilościowych przeprowadzono za pomocą testu Shapiro-Wilka. Wyniki badań przedstawiono w postaci średniej $\pm$ odchylenie standardowe. Różnice pomiędzy rozkładami badanych zmiennych ilościowych dla prób niezależnych badano w zależności od rozkładu oraz liczby grup za pomocą: testu t-Studenta, testu Manna-Whitney'a lub testu Kruskala-Wallisa. Ocenę powtarzalności zastosowanych metod przeprowadzono za pomocą współczynnika zmienności wewnątrzserijnej –

CV (ang. coefficient of variation) wyrażonego w procentach i obliczonego ze wzoru:

$$CV = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100\%$$

gdzie:

SD – odchylenie standardowe,
 $\bar{x}$ – średnia arytmetyczna.

We wszystkich przeprowadzonych badaniach różnice na poziomie istotności $p < 0,05$ przyjęto za statystycznie znaczne.

WYNIKI

Początkowa charakterystyka badanych grup została przedstawiona w tabeli 1. Do badania włączono 20 chorych z sezonowym ANN uczulonych na pyłki traw i zbóż oraz 10 zdrowych ochotników. Obie grupy nie różniły się pod względem wieku, rozkładu płci oraz średnich wartości odczynu na sól fizjologiczną. Zgodnie z oczekiwaniami, średnia wartość odczynu na mieszanek traw i zbóż w PTS przeprowadzonych w trakcie wizyty rekrutacyjnej była statystycznie wyższa u chorych na ANN w porównaniu z grupą zdrowych ($p < 0,001$). Również średnie wartości odczynu na histaminę były istotnie wyższe w grupie chorych na ANN w porównaniu ze zdrowymi ($p = 0,016$).

Tabela 1. * Początkowa charakterystyka osób włączonych do badania
Table 1. Characteristic of patients included in the study

Parametr	Jednostka	Chorzy na ANN	Grupa kontrolna	p**
Liczebność grupy	[n]	20	10	–
Wiek	[lata]	24,1 ± 3,7 (18 - 31)	26,3 ± 3,0 (21 - 30)	0,12
Płeć (kobieta / mężczyzna)	[n] [%]	8 / 12 40 / 60	5 / 5 50 / 50	–
Średnica odczynu w PTS na trawy/zboża***	[mm]	10,3 ± 3,5	0,0 ± 0,0	<0,001
Średnica odczynu w PTS na histaminę***	[mm]	6,1 ± 0,7	4,9 ± 0,9	0,02
Średnica odczynu w PTS 0,9-procentowy NaCl***	[mm]	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	1

* Wyniki przedstawiono w postaci mediany lub średniej ±SD i podano najmniejszą oraz największą wartość.

** Poziom istotności różnic pomiędzy obiema grupami (test t-Studenta lub Manna-Whitney'a).

*** Badanie przeprowadzone w trakcie wizyty rekrutacyjnej.

Przed przeprowadzeniem analizy statystycznej uzyskanych wyników zweryfikowano powtarzalność wykonywania nakłucia roztworów przy użyciu lancetu oraz igły przez osobę przeprowadzającą badania

Porównanie wartości wyników uzyskanych w PTS po zastosowaniu jednorazowej igły do wstrzyknięć z wynikami uzyskanymi po zastosowaniu standaryzowanego lancetu z 1-milimetrowym ostrzem

Zarówno w grupie chorych na ANN, jak również w grupie kontrolnej nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic pomiędzy odczynami uzyskanymi w PTS przeprowadzonych za

pomocą igły do wstrzyknięć oraz standaryzowanego lancetu z 1-milimetrowym ostrzem (ryc. 1, 2).

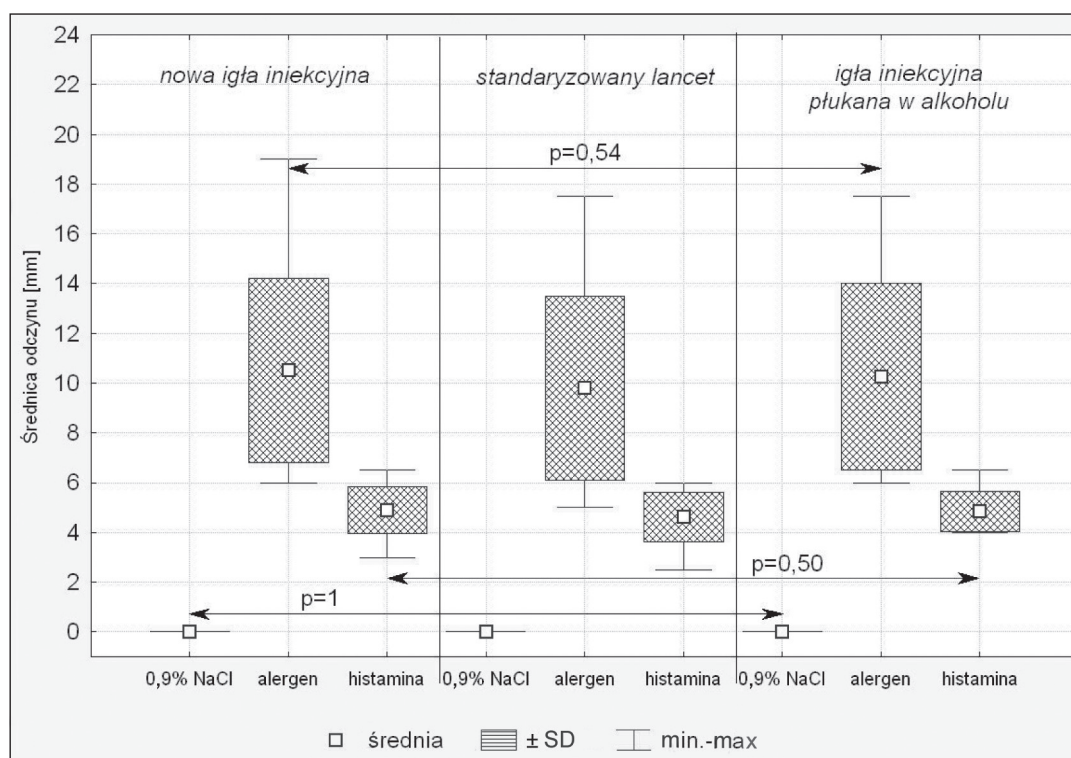
Wpływ zastosowania w metodzie PTS tylko jednej igły (płukanej w 70-procentowym alkoholu izopropylowym) do nakłucia wszystkich roztworów w porównaniu z zastosowaniem nowej igły do nakłucia każdego roztworu

Ani w grupie chorych na ANN, ani w grupie kontrolnej nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic pomiędzy odczynami uzyskanymi w PTS przeprowadzonych za pomocą nowej jednorazowej igły do wstrzyknięć w stosunku do tej samej igły płukanej w 70-procentowym alkoholu izopropylowym (ryc. 1, 2).

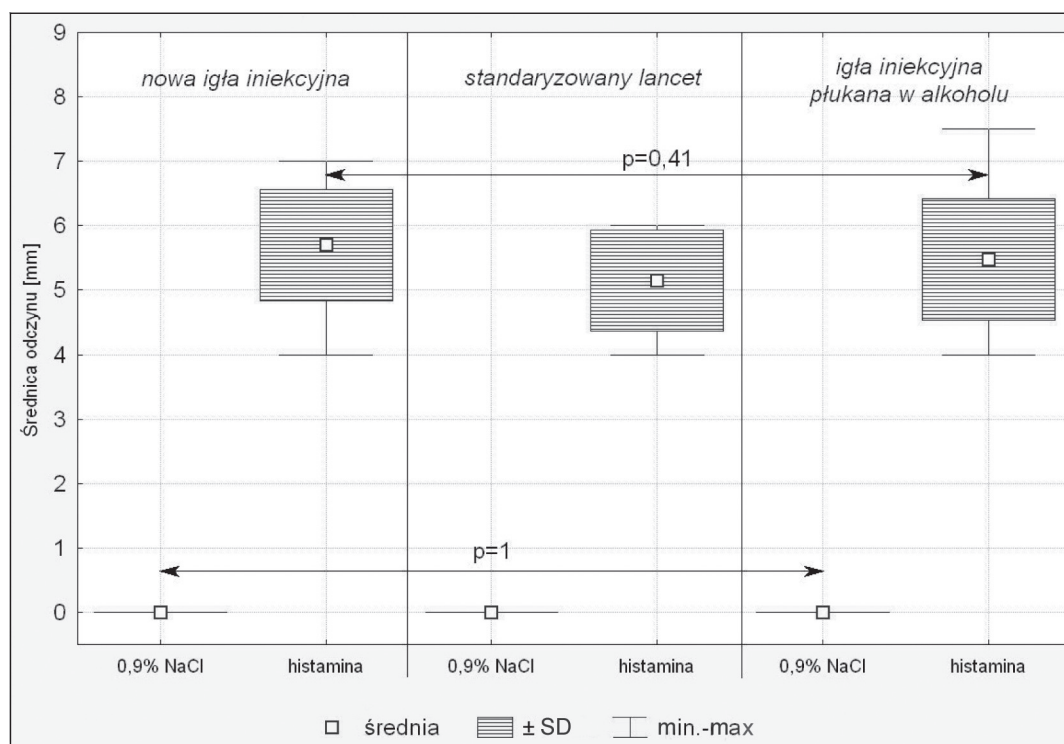
Ze uwagi na przyjętą w protokole kolejność nakłuwania roztworów testowych, dokonano również porównania wartości odczynów każdego z 10 roztworów po zastosowaniu nowej igły z ich wartościami uzyskanymi w tym samym czasie na drugim przedramieniu po zastosowaniu tej samej igły płukanej w 70-procentowym alkoholu izopropylowym (w celu oceny stopnia zanieczyszczenia igły i przenoszenia na jej powierzchni roztworów testowanych alergenów). Pomiedzy obiema metodami nie stwierdzono istotnych różnic w wartościach odczynów dla żadnego z 10 nakłuwanych roztworów testowych (tab. 2).

Porównanie powtarzalności wyników PTS wykonywanych z zastosowaniem nowej jednorazowej igły do nakłucia każdego alergenu z wynikami uzyskanymi po zastosowaniu standaryzowanego lancetu z 1-milimetrowym ostrzem oraz tej samej igły płukanej w 70-procentowym alkoholu izopropylowym

Analizy porównawczej powtarzalności zastosowanych metod nakłuwania roztworów w PTS dokonano poprzez obliczenie współczynnika CV(%) dla wartości odczynów testowanych roztworów w poszczególnych metodach w grupie chorych na ANN (tab. 3).



Ryc. 2. Wartości odczynów dla 0,9-procentowego NaCl, alergenu i histaminy w PTS uzyskane za pomocą trzech badanych metod u chorych na ANN
Fig. 2. Wheel diameters of saline, allergen and histamine in SPT performed with three examined methods in SAR patients



Ryc. 3. Wartości odczynów dla 0,9-procentowego NaCl i histaminy w PTS uzyskane za pomocą trzech badanych metod w grupie kontrolnej
Fig. 3. Wheel diameters of saline and histamine in SPT performed with three examined methods in control group

Tabela 2. Wartości odczynów kolejno nakłuwanych roztworów po zastosowaniu nowej jednorazowej igły do wstrzyknięć oraz ich wartości po zastosowaniu tej samej igły płukanej w 70-procentowym alkoholu izopropylowym do nakłucia wszystkich roztworów w grupie chorych na ANN
Table 2. Results of subsequently pricked solutions in SPT performed with the "single puncture" injection needle and one needle wiped in alcohol in SAR patients

Testowany roztwór	Nowa igła do wstrzyknięć		Igła do wstrzyknięć płukana w alkoholu		p***
	n** [-]	średnia ± SD [mm]	n* [-]	średnia ± SD [mm]	
0,9-procentowy NaCl	20	0,0 ± 0,0	20	0,0 ± 0,0	1
0,9-procentowy% NaCl	20	0,0 ± 0,0	20	0,0 ± 0,0	1
Alergen	20	10,1 ± 3,4	20	10,1 ± 3,7	0,98
Histamina	20	4,8 ± 0,7	20	4,8 ± 0,8	0,52
0,9-procentowy% NaCl	20	0,0 ± 0,0	20	0,2 ± 0,4	0,075
0,9-procentowy% NaCl	20	0,0 ± 0,0	20	0,0 ± 0,0	1
Histamina	20	4,7 ± 0,9	20	4,8 ± 0,8	0,52
Alergen	20	10,1 ± 3,7	20	10,4 ± 3,9	0,75
0,9-procentowy% NaCl	20	0,0 ± 0,0	20	0,0 ± 0,0	1
0,9-procentowy% NaCl	20	0,0 ± 0,0	20	0,0 ± 0,0	1

*Kolejność nakrapianych roztworów (jak pokazano na schemacie przedstawionym na rycinie 1).

**Liczba prób (nakłuć).

***Poziom istotności różnic pomiędzy obiema metodami (test t-Studenta).

Wartości współczynnika CV(%) były najniższe dla odczynów po histaminie i alergenie uzyskanych po nakłuciu lancetem, jednak nie różniły się istotnie od ich wartości uzyskanych za pomocą pozostałych dwóch metod. Poziom istotności różnic pomiędzy CV% dla histaminy w poszczególnych metodach wynosił $p=0,73$. Poziom istotności różnic pomiędzy CV% dla alergenów w poszczególnych metodach wynosił $p=0,32$.

Tabela 3. Powtarzalność wyników PTS wykonywanych z zastosowaniem: nowej jednorazowej igły do nakłucia każdego roztworu, igły płukanej w 70-procentowym alkoholu izopropylowym oraz lancetu z 1 mm ostrzem w grupie chorych na ANN
Table 3. Reproducibility of SPT performed with the "single puncture" injection needle, one needle wiped in alcohol and the lancet in SAR patients

Testowana metoda	Testowany roztwór	n* [-]	Średnia [mm]	SD [mm]	CV** [%]
Nowa igła do wstrzyknięć	0,9-procentowy NaCl	120	0,0	0,0	–
	Alergen	40	9,8	3,7	37,7
	Histamina	40	4,6	1,0	21,7
Lancet z 1-milimetrowym ostrzem	0,9-procentowy NaCl	120	0,0	0,0	–
	Alergen	40	10,5	3,4	32,3
	Histamina	40	4,9	0,9	18,3
Igła do wstrzyknięć płukana w alkoholu	0,9-procentowy NaCl	120	0,0	0,0	–
	Alergen	40	10,3	3,8	36,8
	Histamina	40	4,9	1,2	24,4

*Liczba prób (nakłuć).

**Współczynnik zmienności wewnątrz serii.

OMÓWIENIE

Punktowe testy skórne są uznaną metodą w diagnostyce chorób alergicznych, a w połączeniu z sugestyjnym wywiadem klinicznym pozwalają z dużym prawdopodobieństwem potwierdzić lub wykluczyć alergiczne podłoże stwierdzanych objawów klinicznych [5, 8, 9]. Spośród wielu przeprowadzonych dotychczas badań, których celem było porównanie jakości wyników PTS uzyskiwanych przy zastosowaniu różnorodnych wprowadzonych na rynek urządzeń, niewiele uwzględniło wielokrotne użycie tych urządzeń do sekwencyjnego nakłuwania różnych roztworów alergenowych, pomimo że taka praktyka jest nadal stosowana w wielu ośrodkach klinicznych [3, 4, 7, 11, 15].

W przeprowadzonym przez nas badaniu, dokonano analizy porównawczej trzech najczęściej stosowanych w Polsce

metod wykonywania PTS pod kątem ich powtarzalności oraz wielkości uzyskiwanych odczynów. Badani włączeni do obu grup zostali starannie wyselekcjonowani pod kątem nieobecności czynników zakłócających (choroby skóry, przyjmowanie leków hamujących rozwój reakcji alergicznej, immunoterapia swoista w wywiadzie), mogących potencjalnie wpływać na wyniki PTS, a same testy były przeprowadzane w warunkach zminimalizowania czynników zewnętrznych mogących mieć wpływ na ich wyniki (przeprowadzenie obu wizyt poza okresem pylenia i o stałej porze dnia, utrzymanie odległości 4 tygodni pomiędzy wizytami).

Jakkolwiek teoretycznie, wszystkie trzy metody mogły być porównane podczas jednej wizyty poprzez nakłucie roztworów na skórze pleców, w naszym badaniu zdecydowaliśmy się na wykonanie PTS na dłoniowej powierzchni przedramienia, co, ze względu na konieczność zachowania wymaganej odległości co najmniej 3 cm pomiędzy roztworami testowymi, zmusiło nas do przeprowadzenia dwóch wizyt.

Wybór ten wynikał z faktu, że przeprowadzone wcześniej badania wykazały istotnie mniejszą powtarzalność wyników PTS przeprowadzanych na skórze pleców w porównaniu z przedramieniem (co wynikało z istnienia zależności pomiędzy przedramieniem odczynu a miejscem nakropienia roztworu testowego na plecach) [14, 15] oraz z faktu, że w codziennej praktyce klinicznej PTS są zwykle przeprowadzane na skórze przedramienia. Ponadto przeprowadzone dotychczas badania nie wykazały wpływu miejsca nakłuwania roztworu alergenu na skórze przedramienia na wielkość odczynu, jeżeli zachowana była wymagana odległość 3 cm od dołu łokciowego i 5 cm od nadgarstka [7].

W trakcie obu wizyt zachowywano stałą kolejność nakłuwania roztworów histaminy oraz alergenu, pomiędzy którymi rozmieszczono roztwory soli fizjologicznej (ryc. 1). Taki układ doświadczenia pozwolił na porównanie wyników PTS, w których wielokrotnie wykorzystywano jedną igłę iniekcyjną płukaną w alkoholu z wynikami uzyskanymi przy zastosowaniu nowej igły do każdego nakłucia, pod kątem występowania odczynów fałszywie dodatnich w miejscach nakropienia kontroli ujemnej.

Wyniki przeprowadzonego badania wykazały, że w obu badanych grupach wielkości odczynów dla każdego z testowanych roztworów osiągane za pomocą trzech badanych metod nie różniły się istotnie pomiędzy sobą. Dalsza szczegółowa analiza porównawcza wielkości odczynów w każdym z 10 kolejno nakłuwanych miejsc na przedramieniu również nie wykazała istotnie wyższych ich wartości po wielokrotnym zastosowaniu tej samej igły płukanej w alkoholu w porównaniu z zastosowaniem nowej jednorazowej igły do wstrzyknięć w grupie chorych na ANN.

Wyniki te pośrednio znalazły potwierdzenie w niektórych dotychczas przeprowadzonych badaniach [3, 18], w których wielokrotne zastosowanie w PTS tego samego urządzenia, którego końcówkę prowadził kolejny nakłucie spłukiwane alkoholem i dokładnie wycierano, prowadziło do znamienego zmniejszenia liczby wyników fałszywie dodatnich w porównaniu z zastosowaniem tego samego urządzenia niepoddawanego czyszczeniu. Są one jednak sprzeczne z wynikami uzyskiwanymi przez innych badaczy.

Piette i wsp. udowodnili, że w PTS przeprowadzanych wielokrotnie za pomocą tej samej igły iniekcyjnej lub lancetu, czyszczonych pomiędzy kolejnymi nakłuciami suchą ligniną, dochodzi do przeniesienia roztworu alergenu (lecz nie kodeiny) i wystąpienia znacznego odsetka reakcji fałszywie dodatnich (12,5 - 67% w zależności od rodzaju alergenu) w miejscach nakropienia soli fizjologicznej [17]. Wydaje się jednak, że tak znaczny odsetek wyników fałszywie dodatnich uzyskanych w tym badaniu mógł wynikać z popełnienia przez autorów licznych błędów metodologicznych: przed przystąpieniem do PTS skóra przedramienia była przemywana alkoholem (co zmienia stopień jej ukrwienia i jest sprzeczne z ogólnie przyjętymi standardami [8, 9]; nie zachowano wymaganej odległości co najmniej 3 cm pomiędzy testowanymi

roztworami, pomimo że istnieją dowody, że w istotny sposób wpływa to na wyniki [20]; wszystkie testy (6 serii po 6 nakłuc) wykonywano na tym samym przedramieniu w czasie jednej wizyty; wreszcie, pomiędzy kolejnymi nakłuciami końcówki urządzenia były wycierane suchą ligniną, co mogło być niewystarczające dla usunięcia resztek alergenu.

Wyniki naszego badania pozostają w sprzeczności także z badaniem przeprowadzonym przez Kupczyk i wsp. [13], którzy wprowadzili porównywalni jedynie metody oparte na lancetach (jednorazowe użycie lancetu vs wielokrotne jego używanie wraz z przemywaniem alkoholem), podczas gdy w naszym badaniu porównywaliśmy także wyniki uzyskane przy użyciu lancetu i igły, to jednak oba badania wykazują dość znaczne podobieństwa metodologiczne. Podczas gdy Kupczyk i wsp. wykazali, że wielokrotne zastosowanie lancetu płukanego w 75-procentowym etanolu pomiędzy nakłuciami prowadzi do wystąpienia znamiennej liczby odczynów fałszywie dodatnich związanych z przeniesieniem roztworu alergenu (lecz nie histaminy i kodeiny) w porównaniu z zastosowaniem nowego lancetu do każdego nakłucia, to wyniki naszego badania wskazują, że wielokrotne użycie tej samej igły nie pogarsza jakości otrzymanych wyników nie tylko w porównaniu do jednorazowego użycia igły, ale też jednorazowego użycia lancetu.

Naszym zdaniem istotne znaczenie dla wyjaśnienia tych rozbieżności może mieć technika i staranność przemywania i wycierania igły (lancetu) przy ich wielokrotnym używaniu, co bezpośrednio wpływa na jakość otrzymywanych wyników. Konieczne są jednak dalsze badania przeprowadzone na większej grupie osób, najlepiej wielośrodkowe, które powinny doprowadzić do rozstrzygnięcia unaocznionych sprzeczności.

Precyzja PTS wykonywanych przy użyciu różnych metod i urządzeń była dotychczas oceniana przez wielu badaczy i wyrażana zazwyczaj jako wskaźnik powtarzalności (CV%) odczynu dla histaminy [3, 7, 10, 15]. W badaniach tych, wykonywanych za pomocą różnych urządzeń, wskaźnik CV, obliczony na podstawie średnich średnic odczynów dla histaminy, wahał się w od 5 do 115% [1, 3, 7, 15, 16, 19]. Spośród badań dotyczących PTS przeprowadzanych za pomocą nowej igły iniekcyjnej, CV% uzyskiwane dla roztworu histaminy wahało się pomiędzy 8 i 32% [1, 7, 15, 19], natomiast wartość tego wskaźnika uzyskiwana przy zastosowaniu do każdego nakłucia nowego lancetu wynosiła 15-36% [7, 15, 21].

W naszym badaniu wartości wskaźnika CV wynosiły odpowiednio: 21,7% przy zastosowaniu nowej igły do każdego nakłucia i 18,3% przy użyciu lancetu – i nie różniły się istotnie od wartości uzyskanych dla igły płukanej w alkoholu (24,4%).

W 1978 r. Nordyckie Towarzystwo Alergologiczne zaleciło, jako wskaźnik wysokiej powtarzalności wybranej metody PTS wartość CV(<20; wskaźnik ten był obliczony na podstawie średnich średnic odczynów dla histaminy [2]. Późniejsza analiza przeprowadzona przez Dreborg i wsp. wykazała, że w większości ośrodków klinicznych w Europie obliczony w ten sposób wskaźnik CV% dla histaminy wynosi 7-25% [10], natomiast Demoly i wsp. przyjęli, że wartość CV(<30 dla odczynu po histaminie pozwala na wiarygodne stosowanie danej metody w codziennej praktyce klinicznej [7].

Chociaż przeprowadzonym przez nas badaniem, powszechnie przyjęte w piśmiennictwie fachowym kryteria wysokiej powtarzalności metody (CV(<20 dla odczynu po histaminie) zostały spełnione jedynie w grupie chorych na ANN w metodzie z zastosowaniem lancetu, to jednak w pozostałych dwóch metodach wskaźnik ten również nie przekraczał 25%. Zgodnie z przyjętymi na świecie standardami postępowania dowodzi to, że wszystkie trzy metody mogą być alternatywnie stosowane w przesiewowych PTS jako wiarygodne narzędzia służące identyfikacji czynników odpowiedzialnych za wystąpienie reakcji alergicznej, pomimo że taki stopień powtarzalności może być niewystarczający dla zapewnienia

wysokiej jakości w badaniach naukowych lub procedurach standaryzacyjnych.

W prezentowanym przez nas badaniu, wskaźnik CV(%) w grupie chorych na ANN, obliczony dla odczynów po histaminie, był niższy niż dla odczynów po alergenach we wszystkich trzech porównywanych metodach. Zjawisko to znajduje potwierdzenie w badaniach innych autorów i może być tłumaczone sumowaniem się zmienności związanej z zastosowaną metodą ze zmiennością odpowiedzi skórnej na wprowadzone cząsteczki alergenu, która jest naturalnie większa w porównaniu z histaminą [12].

WNIOSEK

Wyniki przeprowadzonego badania wskazują, że rozpo-
wszechniona w Polsce metoda wykonywania punktowych
testów skórnych (PTS) za pomocą jednorazowej igły iniek-
cyjnej charakteryzuje się podobną jakością, przy niższej ce-
nie w porównaniu z innymi metodami, w których wykorzysta-
ny jest standaryzowany lancet lub wielokrotnie zmieniane
igły iniekcyjne.

PIŚMIENNICTWO

1. Aas K.: *Some variables in skin prick testing*. Allergy, 1980, 35, 250.
2. Aas K., Backman A., Belin L.: *Standardization of allergen extracts with appropriate methods: the combined use of skin prick testing and radioal-
lergosorbent tests*. Allergy, 1978, 33, 130.
3. Adinoff A.D., Rosloniec D.M., McCall L.L. i wsp.: *A comparison of six
epicutaneous devices in the performance of immediate hypersensitivity
skin testing*. J. Allergy Clin. Immunol., 1989, 84 (2), 168-74.
4. Basomba A., Sastre A., Palacz A. i wsp.: *Standardization of the prick
test: a comparative study of three methods*. Allergy, 1985, 40, 395-399.
5. Bousquet J., Van Cauwenberge P., Khaltaev N.: *Aria Workshop Group;
World Health Organization. Allergic rhinitis and its impact on asthma*. J.
Allergy Clin. Immunol., 2001, 108, 5 suppl., 147-334.
6. Demoly P., Michel F.B., Bousquet J.: *In vivo methods for study of allergy:
skin tests, techniques, interpretation*. In: Allergy, Principles and Practice.
(ed. Middleton E. Jr). Mosby & Co. New York, 1998, 430-439.
7. Demoly P., Bousquet J., Manderscheid J.C. i wsp.: *Precision of skin prick
and puncture tests with nine methods*. J. Allergy Clin. Immunol., 1991,
88(5), 758-62.
8. Dreborg S., Frew A.: *Position paper: allergen standardisation and skin
tests*. Allergy, 1993, 47, 48-82.
9. Dreborg S., Backman A., Basomba A. i wsp.: *Skin tests used for type I
allergy testing*. Position paper, EAACI subcommittee. Allergy, 1989, 44,
1-59.
10. Dreborg S., Basomba A., Belin L. i wsp.: *Biological equilibration of aller-
gen preparation: methodological aspects and reproducibility*. Clin. Aller-
gy, 1987, 17, 537-550.
11. Engler D.B., DeJarnatt A.C., Sim T.C. i wsp.: *Comparison of the sensitivi-
ty and precision of four skin devices*. J. Allergy Clin. Immunol., 1992, 90,
985-991.
12. Illi S., Garcia-Marcos L., Hernando V. i wsp.: *Reproducibility of skin prick
test results in epidemiologic studies: a comparison of two devices*. Aller-
gy, 1998, 53, 353-358.
13. Kupczyk M., Kuprys I., Gorski P. i wsp.: *Not one lancet for multiple SPT*.
Allergy, 2001, 56, 3, 256-257.
14. Moegaard F., Nielsen M.L., Larsen P.N. i wsp.: *Cell-mediated immunity
assessed by skin testing*. Allergy, 1988, 43, 109.
15. Nelson H.S., Rosloniec D.M., McCall L.L. i wsp.: *Comparative perfor-
mance of five commercial prick skin test devices*. J. Allergy Clin. Immu-
nol., 1993, 92, 750-756.
16. Perrin L.F., Dechamp C.H., Deviller P. i wsp.: *Reproducibility of skin test:
a comparative study of the Pepys prick test and the Morrow-Brown nee-
dle and their correlation with the serum IgE level*. Clin. Allergy, 1984,
14, 581.
17. Piette V., Bourret E., Bousquet J. i wsp.: *Prick tests to aeroallergens: is it
possible simply to wipe the device between tests?* Allergy, 2002, 57, 10,
940-942.
18. Santilli J. Jr, Potsus R.L., Goodfriend L. i wsp.: *Skin reactivity to purified
pollen allergens in highly ragweed-sensitive individuals*. J. Allergy Clin.
Immunol., 1980, 65, 6, 406-412.
19. Sullivan T.J.: *Pharmacologic modulation of the whealing response to hi-
stamine in human skin: identification of doxepin as a potent in vivo inhibi-
tor*. J. Allergy Clin. Immunol., 1982, 69, 260.
20. Tipton W.R.: *Influence of histamine controls on skin tests with Hymenop-
tera venom*. Annals Allergy, 1980, 44, 204.
21. Topuz B.: *Comparison of the sensitivity, precision and reproducibility of
the multi-test and blood lancet*. Internet J. Dermatol., 2001, 1, 1.

Otrzymano 28 czerwca 2007 r.

Adres: Aleksandra Semik-Orzech, Katedra i Klinika Pneumonologii Śląskiej
Akademii Medycznej, ul. Medyków 14, Katowice 40-752, tel.: 032 252 38 31,
032 789 46 51; fax: 032 252 38 31; e-mail: pneumo@slam.katowice.pl