

REAKTIVNOST KOŽE NA POLENE TRAVA I GRINJU
DERMATOPHAGOIDES PTERONYSSINUS U PRICK-TESTU IZVEDENOM SA
DVIJE VRSTE ALERGENSKIH PRIPRAVAKA

J. Godnić-Cvar i B. Kanceljak-Macan

Institut za medicinska istraživanja i medicinu rada Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb

Primljeno 2. XI. 1988.

Upotrebljivost domaćih nestandardiziranih pripravaka za prick-test htjela se provjeriti usporedbom s internacionalno priznatim standardiziranim pripravcima aktivnosti 100 000 BU. Komparativno su upotrijebljeni alergeni grinje *Dermatophagoides pteronyssinus* kod 107 ispitanika te pojedinačni poleni trava, i to: *Dactylis glomerata*, *Poa pratensis*, *Pbleum pratense* i *Secale cereale* kod 39 ispitanika. Klinička značajnost kožne reakcije određena je usporedbom veličine urtike izazvane alergenom s onom izazvanom negativnom kontrolom (puferom) te pozitivnom kontrolom (otopinom histamina koncentracije 1 mg/ml). Utvrđeno je da domaći preparat grinje od 3000 PNU/ml ne daje podjednake kožne reakcije kao standardizirani pripravak te ne daje klinički vjerodostojne rezultate, dok su pripravci polena trave, s izuzetkom trave *Poa pratensis*, vrlo dobri i usporedivi sa standardnim pripravcima, te se mogu pouzdano upotrebljavati u praksi. Na temelju rezultata ovog istraživanja zaključuje se da treba postrožiti kriterije za ocjenu klinički značajno pozitivne kožne reakcije na alergenske pripravke.

U dugogodišnjoj praksi alergološke službe kod nas donedavna se praktički isključivo upotrebljavala metoda intradermalnog kožnog testiranja. Ne tako davno, osobito za aplikaciju kod djece (1), ali uskoro i u odraslih počelo se sve više pridavati važnosti i uočavati pogodnosti prick-testa. Prednost tog testa pred intradermalnim je njegova dobra ponovljivost, specifičnost, sukladnost s rezultatom RAST-a i provokacijskih testova, manja trauma za pacijenta te manja vjerojatnost incidenta. Ubrzo su se pojavili na našem tržištu i alergenski pripravci za testiranje prick-metodom. Međutim, kao i za dotada upotrebljavane pripravke za intradermalne testove karakterizirani su jedinicama proteinskog dušika (PNU/ml) ali i težine na volumen (w/v).

Zahtjevi za standardizacijom alergenskih pripravaka već godinama se postavljaju (5, 6), a rezultati višegodišnjeg rada na tom području jesu pripravci koji se preporučuju za kožno testiranje (7). Unatoč manjkavoj standardizaciji naših alergenskih pripravaka oni

se široko primjenjuju, a dijagnostika se pomaže nalazom specifičnog imunoglobulina E, unatoč neidentičnom alergenu vezanom na disk primijenjenom u RAST-metodi i u kožnom testu. Zbog objektivnih poteškoća *in vitro* dijagnostika se nedovoljno koristi, a i spektar alergena za RAST je nedostatan te se u praksi često na osnovi sugestivne anamneze i kožnog testa provodi postupak višegodišnje imunoterapije i medikamentne terapije i daje ocjena radne sposobnosti.

Radi potreba svakodnevne prakse i istraživačkog rada htjeli smo dobiti uvid u usporedivost rezultata kožnog testiranja domaćim alergenskim pripravkom u PNU/ml jedinicama s rezultatom testiranja standardiziranim i internacionalno priznatim pripravcima aktivnosti 100 000 BU/ml te odnosa rezultata ovih testova prema razini specifičnog IgE.

ISPITANICI I METODE RADA

Kožna preosjetljivost na grinju *Dermatophagoides pteronyssinus* ispitana je kod 107 ispitanika, od kojih je trećina ispitanika anamnestički bila bez simptoma alergijske bolesti. Kožna preosjetljivost na polene trava testirana je u 38 ispitanika s anamnezom koja je upućivala na polinozu u proljetnim mjesecima. Prick-testiranje izvedeno je modificiranom metodom prema *Pepysu i suradnicima* (5) standardiziranom lancetom vrška 1 mm duljine. Osim alergena koristila se pozitivna kontrola otopinom histamina (1 mg/ml) te negativna kontrola puferском otopinom (sastava: 50% glicerola, 0,5% fenola u fiziološkoj otopini). Urtika je mjerena u dva promjera a veličina je izražena u milimetrima: $(d_1 + d_2)/2$. Kriterij za ocjenu značajno pozitivne reakcije bila je urtika 3 mm veća od one izazvane puferom (6). Testiranja su se vršila alergenim pripravcima domaćeg proizvođača označenim PNU/ml jedinicama te biološki standardiziranim alergenim pripravcima proizvedenim u laboratorijima »Pharmacia Diagnostica«, Švedska, biološke aktivnosti 100 000 BU/ml, usporedo. Testiralo se alergenim pripravcima: grinje *Dermatophagoides pteronyssinus*, pojedinačnih polena trava, i to *Dactylis glomerata*, *Poa pratensis*, *Pbleum pratense*, *Secale cereale*.

Razina specifičnog imunoglobulina klase E (RAST metodom) utvrđena je dijagnostičkim setovima tvornice Pharmacia Diagnostica. RAST na grinju *Dermatophagoides pteronyssinus* utvrđivan je kod 17 pacijenata od kojih je 16 imalo značajno pozitivnu reakciju na koži izazvanu švedskim preparatom te na travu *Dactylis glomerata* kod 13 pacijenata, od kojih 12 pozitivnih u testu s oba alergenska pripravka. Razlike između veličina urtike testirane su t-testom parova, dok je razlika između frekvencija klinički pozitivnih reakcija evaluirana hi-kvadrat testom.

REZULTATI

U naših 107 ispitanika srednja vrijednost veličine urtike izazvane otopinom histamina koncentracije 1 mg/ml iznosila je 5,5 mm, 68% ispitanika imalo je reakciju na histamin veličine između 3×4 i 7×8 mm. Srednja vrijednost veličine urtike

Tablica 1

Veličina urtike izazvane domaćim i švedskim preparatom grinje *Dermatophagoides pteronyssinus* (DP) s pripadajućom RAST klasom

Broj	Pufer	Histamin	DP 3000 PNU/ml	DP 100 000 BU/ml	RAST klasa
1.	0×0	4×4	3×3	2×2	0
2.	0×0	6×7	3×3	3×3	+1
3.	0×0	7×8	2×2	4×3	0
4.	0×0	5×6	3×3	4×4	0
5.	1×1	5×6	4×5	4×4	0
6.	0×0	6×6	2×2	5×3	0
7.	0×0	6×6	2×2	5×3	0
8.	2×2	6×6	2×2	5×5	+2
9.	0×0	5×4	2×2	5×5	+2
10.	1×1	5×6	4×5	5×6	0
11.	1×1	5×5	6×5	5×5	+4
12.	2×2	7×8	4×4	6×7	+2
13.	0×0	6×5	4×4	6×6	+4
14.	1×1	4×4	7×7	6×7	0
15.	2×2	5×5	3×3	8×6	+3
16.	0×0	5×5	3×3	7×6	+2
17.	1×1	5×5	5×5	12×14	+4

BU – biološke jedinice

PNU – jedinice proteinskog dušika

izazvane testiranjem puferom iznosi 0,89 mm. 68% naših ispitanika imalo je veličinu urtike izazvane puferom između 0 i 2×2 mm.

Dermatophagoides pteronyssinus

Svega 34 od 107 ispitanika testiranih pripravkom *Dermatophagoides pteronyssinus* aktivnosti 100 000 BU/ml pokazivalo je pozitivnu reakciju, od kojih je svega 18 (17%) imalo klinički značajnu reakciju kad je testiranje vršeno pripravkom 3000 PNU/ml. Utvrđena je statistički značajna razlika između veličina urtike u milimetrima dobivenih testiranjem domaćim pripravkom označenim 3000 PNU/ml i švedskim, aktivnosti 100 000 BU/ml na razini značajnosti $P < 0,01$. Test standardiziranim pripravkom osjetljiviji je od drugog.

Iz prikaza na tablici 1, gdje su komparativno prikazane vrijednosti promjera urtike izazvane alergenskim preparatom *Dermatophagoides pteronyssinus* onih pacijenata u kojih je RAST određivan a čija urtika izazvana domaćim preparatom dostiže ili je veća od one izazvane puferom, vidljivo je da su urtike u istog pacijenta izazvane standardiziranim pripravkom veće od onih izazvanih domaćim preparatom. Uspoređujući reaktivnost kože na domaći pripravak s razredima RAST-a uočljivo je da se klinički značajna razina imunoglobulina E mogla dokazati u pacijenata kod kojih je

Tablica 2

Ispitanici s klinički značajno pozitivnom reakcijom (u odnosu na histamin) na *Dermatophagoides pteronyssinus* 100 000 BU/ml (DP)

Broj	PF	Histamin	DP 3000 PNU/ml	Klin. ocjena (PF)	DP 100 000 BU/ml	Klin. ocjena (PF + hist.)
1.	1 × 1	4 × 4	3 × 3	NEG.	5 × 5	POZ.
2.	1 × 1	7 × 7	1 × 1	NEG.	7 × 7	POZ.
3.	2 × 2	5 × 5	2 × 2	NEG.	5 × 6	POZ.
4.	1 × 1	6 × 6	1 × 1	NEG.	6 × 6	POZ.
5.	1 × 1	4 × 5	3 × 3	NEG.	5 × 5	POZ.
6.	0 × 0	5 × 6	2 × 2	NEG.	6 × 6	POZ.
7.	0 × 0	6 × 5	2 × 2	NEG.	5 × 5	POZ.
8.	0 × 0	5 × 4	2 × 2	NEG.	5 × 5	POZ.
9.	0 × 0	4 × 5	3 × 3	POZ.	6 × 4	POZ.
10.	1 × 1	4 × 4	5 × 5	POZ.	12 × 14	POZ.
11.	1 × 1	4 × 4	7 × 7	POZ.	6 × 7	POZ.
12.	2 × 1	6 × 5	8 × 7	POZ.	9 × 10	POZ.
13.	0 × 0	6 × 5	4 × 4	POZ.	6 × 6	POZ.
14.	1 × 1	5 × 5	6 × 5	POZ.	5 × 5	POT.
15.	2 × 2	5 × 5	7 × 6	POZ.	6 × 8	POZ.
16.	1 × 1	5 × 6	4 × 5	POZ.	5 × 6	POZ.
17.	0 × 0	5 × 5	3 × 3	POZ.	7 × 6	POZ.
18.	0 × 0	5 × 6	5 × 6	POZ.	6 × 6	POZ.

BU — biološke jedinice, PNU — jedinice proteinskog dušika, PF — pufer, Histamin — otopina 1 mg/ml histamina, Klin. ocjena — procjena u odnosu na referentnu probu

kožna reakcija bila (osim u jednog) jednaka ili veća od histaminske. Od 18 ispitanika (17% skupine) kod kojih je urtika izazvana pripravkom jačine 100 000 BU/ml dostizala veličinu histaminske svega osam (0,7%) ispitanika imalo je takvu veličinu urtike kad je testiranje provedeno pripravkom od 3000 PNU/ml (tablica 2).

Dactylis glomerata

Od 39 ispitanika testiranih standardiziranim pripravkom aktivnosti 100 000 BU/ml njih 19 (48,7%) ima klinički značajno pozitivnu reakciju, dok ih 16 (41,03%) ima klinički značajno pozitivnu reakciju kad su testirani alergenskim pripravkom karakteriziranim 5000 PNU/ml. Kod devet (23%) ispitanika veličina urtike veća je u testu izvršnim domaćim pripravkom. Od urtike izazvane histaminom jednaka ili veća reakcija registrira se u deset (26%) ispitanika testiranih švedskim, a u jedanaest (28%) ispitanika testiranih domaćim alergenskim pripravkom. Ova dva testa se prema kliničkoj značajnosti statistički ne razlikuju.

Iz tablice 3. vidljivo je da je kožna reaktivnost na dva tipa alergenskih pripravaka polena trave *Dactylis glomerata* podjednaka sudeći po veličini urtike te da se kod onih

Tablica 3

Reakcija kože na prick-test domaćim i švedskim alergenskim pripravkom polena trave *Dactylis glomerata* s pripadajućom RAST klasom

Broj	Pufer	Histamin	Dactylis 5000 PNU/ml	Dactylis 100 000 BU/ml	RAST klasa
1.	1 × 1	5 × 6	3 × 3	5 × 5	0
2.	0 × 0	5 × 7	4 × 4	4 × 6	0
3.	0 × 0	6 × 6	4 × 4	4 × 6	+1
4.	1 × 1	6 × 6	3 × 3	2 × 2	+2
5.	0 × 0	4 × 4	3 × 4	3 × 3	+3
6.	0 × 0	6 × 5	7 × 8	10 × 8	+3
7.	2 × 2	7 × 6	10 × 9	5 × 5	+3
8.	2 × 2	6 × 5	10 × 7	14 × 10	+3
9.	3 × 3	7 × 7	11 × 12	11 × 12	+3
10.	1 × 1	4 × 4	15 × 15	18 × 13	+3
11.	1 × 1	4 × 4	9 × 10	11 × 11	+4
12.	2 × 2	6 × 7	10 × 10	12 × 12	+4
13.	1 × 1	6 × 6	11 × 11	14 × 9	+4

BU – biološke jedinice

PNU – jedinice proteinskog dušika

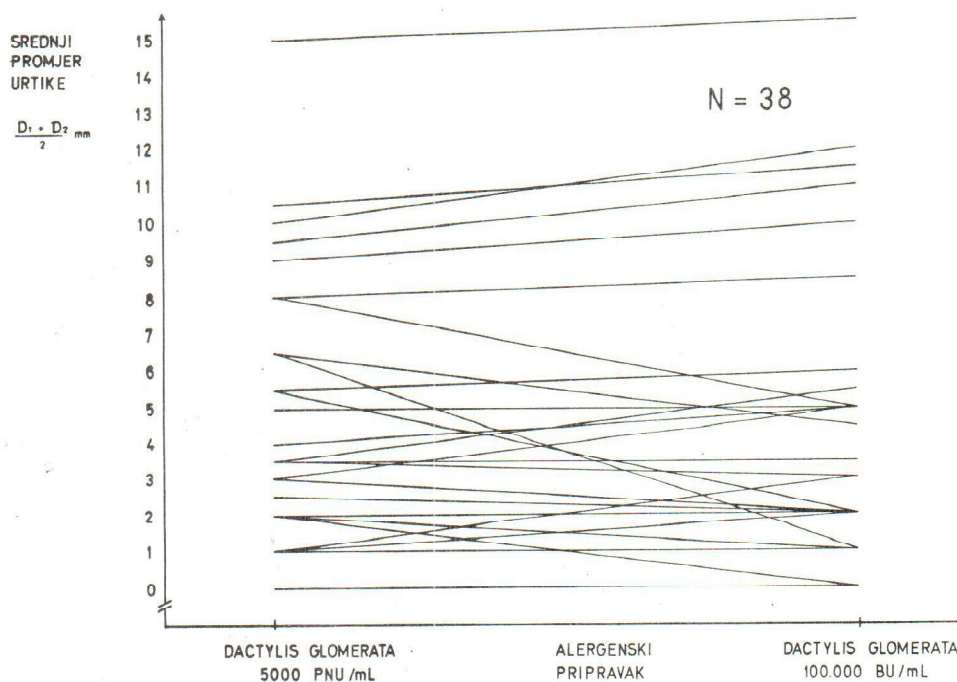
pacijenta kod kojih je utvrđena klinički relevantna razina specifičnih IgE izmjerila urtika približne veličine onoj izazvanoj histaminom.

Pbleum pratense

Od 39 ispitanika 16 (41%) imalo je značajno pozitivnu kožnu reakciju na oba alergenska pripravka. U pet ispitanika reakcija kože nije istovjetna na oba alergenska pripravka. Hi-kvadrat testom utvrđeno je da se testovi s obzirom na rezultate ne razlikuju. Reakciju u koži jednaku ili veću od one izazvane u testu otopinom histamina imalo je sedam (18%) ispitanika kad je testirano švedskim, a osam (20,5%) kad je testirano domaćim pripravkom.

Secale cereale

Od 32 testirana pacijenta 15 (47%) je imalo pozitivnu reakciju kad je testirano preparatom označenim PNU jedinicama, a 17 (53%) kad je testirano standardiziranim pripravkom. Hi-kvadrat testom utvrđeno je da nema razlike u testovima s obzirom na kliničku značajnost. Urtiku veću ili jednaku onoj izazvanoj histaminom imalo je sedam ispitanika (22%) testiranih švedskim, a dva ispitanika testirana domaćim pripravkom.



Slika 1. Usporedni prikaz srednjih promjera urtika izazvanih prick-testiranjem s dva tipa alergenskih pripravaka polena trave *Dactylis glomerata*

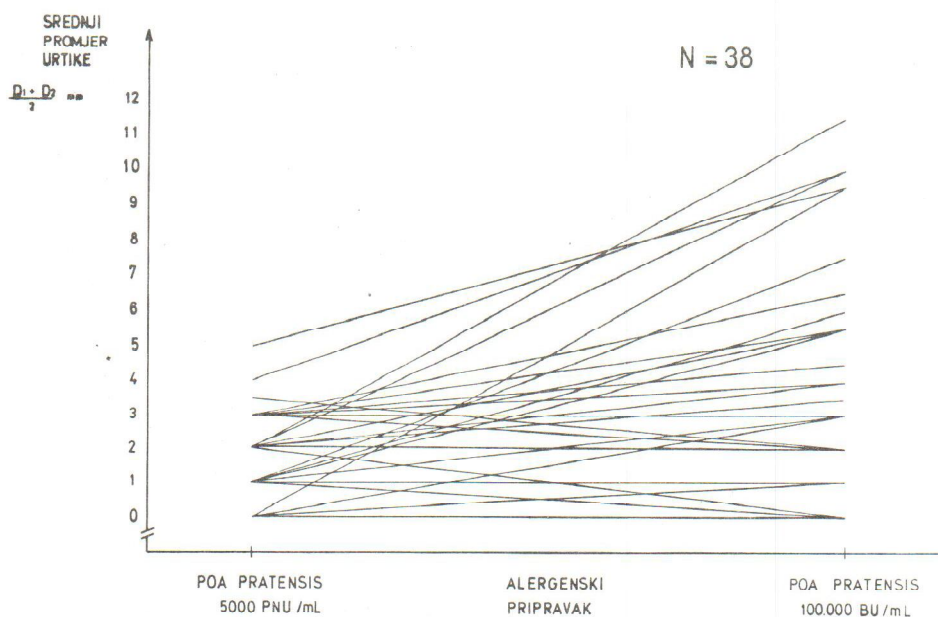
Poa pratensis

Od 39 pacijenata testiranih alergenskim pripravcima peludi ove trave tri (8%) je imalo značajnu reakciju kad je testirano domaćim, a 18 (46%) kad je testirano švedskim alergenskim pripravkom. Hi-kvadrat testom utvrđena je statistički značajna razlika ($P < 0,05$) među rezultatima testova različitim alergenskim pripravcima. Urtiku identičnu ili veću od histaminom izazvane imalo je 13 (33%) ispitanika u testu standardiziranim pripravkom, a ni jedan pacijent testiran pripravkom označenim PNU jedinicama.

Na slikama 1. i 2. prikazane su paralelno veličine urtika izazvane domaćim i švedskim preparatom polena trave *Dactylis glomerata* i *Poa pratensis*. Kod prve je trave podudarnost među rezultatima očita, dok ona za travu *Poa pratensis* nije tako evidentna.

RASPRAVA

Domaći preparat alergena grinje *Dermatophagoides pteronyssinus* ne izaziva podjednake kožne reakcije kao standardizirani pripravak u biološkim jedinicama.



Slika 2. Usporedni prikaz srednjih promjera urtika izazvanih prick-testiranjem s dva tipa alergenskih pripravaka polena trave *Poa pratensis*

Mogući razlog je širok spektar alergogenih komponenti bjelančevina ekstrakta grinje, varijabilno prisutnih u finalnom pripravku koji nije biološki standardiziran. Mogućnost da se radi o različitoj vrsti grinje kao bazične sirovine za izradu ekstrakta manje je vjerojatna s obzirom na to da je dokazana čak križna reakcija između ekstrakta grinje *D. pteronyssinus* i *D. farinae*. Ova se eventualna razlika ni inače ne uzima u obzir s obzirom na to da se za određivanje specifičnih imunoglobulina E upotrebljavaju setovi Pharmacia Diagnostica koji imaju na diskovima vezane alergene identične onima što smo ih upotrijebili za kožni test kao standardizirane pripravke u biološkim jedinicama (100 000 BU/ml). Domaći pripravci polena trava mnogo se bolje podudaraju u alergenoj potentnosti (izazivaju podjednaku reakciju kože) s biološki standardiziranim pripravcima za razliku od pripravka grinje. Zbog toga su rezultati kožnog testiranja polenima trava pouzdaniji.

ZAKLJUČAK

Domaćim pripravkom grinje *Dermatophagoides pteronyssinus* za prick-test ne možemo postići vjerodostojne rezultate u kožnom testu te je nužno kod pacijenta sa sugestivnom anamnezom učiniti RAST test prije nego se donesu za pacijenta relevantni

zaključci u smislu terapije (osobito imunoterapije), prognoze bolesti i radne sposobnosti.

Alergenski pripravci polena trave, s izuzetkom *Poa pratensis*, koja ionako spada u rod trava (*Graminae*) na koje se obično razvije unakrsna reaktivnost unutar istog roda (7), pokazali su se kao vrlo dobri i pouzdani za dokazivanje senzibilizacije u koži.

Nužno je postrožiti kriterije za procjenu kliničke značajnosti kožne reakcije kad se za testiranje upotrebljavaju zasada nestandardizirani domaći alergenski pripravci za prick-testiranje.

Ovakav način usporednog testiranja može poslužiti kao model praktične kliničke provjere preparata kojima se služimo u alergološkoj praksi, pod pretpostavkom da postoji identična potentnost između različitih serija istovrsnog alergenskog pripravka.

LITERATURA

1. Buneta D, Dukić M, Stopić Z. O izvođenju i interpretaciji kožnog testa u djece. Standardizacija dijagnostičkih postupaka u alergologiji i kliničkoj imunologiji, SAKI, Zagreb 1983. str. 56–74.
2. Aas K, Backman A, Belin L, Weeke B. Standardization of allergen extracts with appropriate methods. *Allergy* 1978;33:130–7.
3. Norman PS. Why standardized extracts? *J Allergy Clin Immunol* 1986;77:405–7.
4. Malling J-H. Immunotherapy, EAACI Immunotherapy Subcommittee Meeting, Copenhagen 1987, *Allergy* 1988;6(suppl):1–33.
5. Pepys J. Skin tests for immediate type I allergic reaction. *Proc Roy Soc Med* 1971;65:271.
6. Lessof MH, Buisseret PD, Merret T, Wraith DG. Assessing the value of skin prick tests. *Clin Allergy* 1980;10:115.
7. Koehler-Kubelka N. A comparative study of grass pollen allergens. U: Symposia Series in Immunobiological Standardisation. Basel-New York: S. Karger 1967;4:177.

Summary

CUTANEOUS REACTIVITY TO GRASS POLLEN AND HOUSE DUST MITE IN PRICK TEST WITH TWO TYPES OF ALLERGEN EXTRACTS

The reliability of prick testing with allergen preparations produced in Yugoslavia was assessed by comparison to the internationally accepted ones (Pharmacia Diagnostica) of 100 000 BU activity. The following allergens were used: the mite *Dermatophagoides pteronyssinus* in 107 subjects, and grass pollens: *Dactylis glomerata*, *Poa pratensis*, *Phleum pratense* and *Secale cereale* in 39 subjects. The clinical significance of the response was assessed in relation to the skin reaction to the negative control solution and positive histamine control (in concentration of 1 mg/ml). The results indicate that the allergen extract of *Dermatophagoides pteronyssinus* (3000 PNU/ml) produced in Yugoslavia does not provoke skin reactions comparable to those provoked by the standardized extract of 100 000 BU in contrast to the grass pollen allergens, with the exception of *Poa pratensis*, which evokes equivalent skin reactions. Thus grass pollen allergens are reliable extracts and can be applied with good confidence in routine work. The need to set more rigorous criteria for assessing skin prick reactions, when domestic, unstandardized products are used, emerged as a result of this study.

Institute for Medical Research and Occupational Health, University of Zagreb, Zagreb