

Szczepienia śródskórne – historia i współczesność

Historia

Odkrycie mechanizmów działania szczepionek ochronnych jest często postrzegane jako jedno z najistotniejszych osiągnięć w dziedzinie zdrowia publicznego.¹ Szczepienia niewielką ilością materiału zakaźnego (np. ze sproszkowanych strupów lub ropy pobranych od chorych na ospę prawdziwą) i podawanego do nosa lub skóry osób zdrowych w celu zapobiegania chorobom zakaźnym były rozpowszechnione w Afryce i Azji wiele lat przed wprowadzeniem szczepień skórnych w Europie na początku XVIII w. Pierwsze szczepionki zawierały żywe drobnoustroje zachowujące pełną zjadliwość, co powodowało wysoką śmiertelność u szczepionych lub poważne odczyny poszczepienne, a także ryzyko zarażenia rodziny i otoczenia.

Przełomowe dla współczesnej wakcynologii były eksperymenty angielskiego lekarza Edwarda Jennera („Inquiry into the Cause and Effects of the Variolae Vaccinae, a Disease Known by the Name of Cow Pox”, 1798), na których podstawie wykazano, że podanie krowianki – innego drobnoustroju, patogennego dla zwierząt, który u ludzi wykazywał zredukowaną zjadliwość, chroniło ludzi przed ospą prawdziwą.² Metoda wykorzystania drobnoustrojów o zmniejszonej zjadliwości do śródskórnego uodparniania na zakażenia drobnoustrojami o pełnej wirulencji, w niewielkim tylko stopniu zmodyfikowana, została wykorzystana między innymi przez odkrywców szczepionki przeciwko gruźlicy (BCG – *Bacillus Calmette-Guerin*). Następnym ważnym etapem było wprowadzenie w 1910 r. przez Charles’a Mantoux techniki śródskórnych wstrzyknięć tuberkuliny jako testu w diagnostyce gruźlicy.^{1,2} Technika Mantoux pozostaje nadal powszechnie akceptowaną metodą

wykonywania próby tuberkulinowej, szczepień przeciwko gruźlicy oraz śródskórnych testów diagnostycznych wykorzystywanych w alergologii i dermatologii.^{3,4} Polega na umieszczeniu w warstwie skóry właściwej końcówki krótkiej, skośnie zakończonej igły o przekroju 26 G i długości 3/8 cala, skierowanej ostrzem do góry i połączonej ze strzykawką o pojemności 1 ml, do której wcześniej nabrano tuberkulinę z fiolki przygotowanej przez producenta. Igłę umieszcza się prawie równolegle do powierzchni skóry, tak by wprowadzić ją do cienkiej warstwy skóry właściwej, a następnie wolno wstrzykuje 0,01 ml szczepionki. Przy prawidłowym umieszczeniu igły i właściwej technice wstrzyknięcia wyczuwa się pewien opór stawiany przez podany płyn i pojawia się biały pęcherzyk.^{5,6}

W 1967 r., gdy WHO ogłosiła światowy program eradykacji ospy prawdziwej, nadal chorowało 10-15 mln osób, głównie z powodu małej dostępności swoistej szczepionki i braku standardów jej podawania. Do osiągnięcia celu tego programu przyczyniło się w dużej mierze zastosowanie rozdwojonej igły do podawania śródskórnego, zaprojektowanej przez Benjamina Rubina,⁷ który odkrył, że niewielka ilość roztworu szczepionki umieszczonej pomiędzy dwoma zębami igły (ok. 2 μ l) i wprowadzonej śródskórnie w okolicę mięśnia naramiennego jest wystarczająca do wywołania skutecznej immunizacji.⁸ Pozwoliło to na znaczne zwiększenie populacji zaszczepionej mniejszą ilością szczepionki.

Mimo dowiedzionej skuteczności immunologicznej i farmakologicznej technika Mantoux nie jest powszechnie rekomendowana jako metoda podawania szczepionek ochronnych, głównie ze względu na brak powtarzalności dawki oraz trud-

dr n. med. Małgorzata
Bartkowiak-Emeryk

Katedra i Zakład Immunologii
Klinicznej, Uniwersytet
Medyczny w Lublinie

Medycyna po Dyplomie 2010;
(19); 9 (174): 81-91

Program koordynowany
przez dr. hab. med.
Leszka Szenborna,
Katedra i Klinika Pediatrii
i Chorób Infekcyjnych,
AM Wrocław,
akredytowany przez
Polskie Towarzystwo
Lekarskie

Program realizowany
dzięki grantowi
edukacyjnemu firmy

sanofi pasteur
The vaccines division of sanofi-aventis Group

Tabela 1. Układ immunologiczny skóry: elementy odporności wrodzonej i nabytej; wg Lambert Ph i wsp. 2008.¹

Elementy funkcjonalne układu immunologicznego skóry	Komórki układu immunologicznego skóry		
	Rezydujące	Migrujące do skóry	Krążące
Odpowiedź wrodzona Reaktywne formy tlenu Ligandy receptorów Toll-podobnych Białka szoku termicznego Cytokiny: IL-1, IL-6, TNF- α Częsteczki adhezyjne Neuropeptydy Eikozanoidy Elementy tolerancji immunologicznej: limfocyty Treg, IL-10, TGF- β	Keratynocyty Komórki śródbłonka Komórki dendrytyczne Komórki Langerhansa Komórki dendrytyczne skóry	Granulocyty Monocyty	Komórki dendrytyczne Komórki NK
Odpowiedź nabyta Antygeny rozpoznania i prezentacji Cytokiny: IL-1, IL-6, TNF α , IL-2, IL-12, IL-18, IFN- γ Chemokiny: CC, CXC Częsteczki adhezyjne Odpowiedź antygenowo-swoistych limfocytów T i B efektorowych	Limfocyty T Komórki dendrytyczne Komórki Langerhansa Komórki dendrytyczne skóry Makrofagi Komórki tuczne	Limfocyty T Limfocyty B Komórki tuczne	Limfocyty T Promonocyty

ności techniczne przy szczepieniach masowych. Prawidłowe wykonanie wstrzyknięcia tą metodą wymaga bowiem przeszkolenia i doświadczenia,^{9,10} zwłaszcza w przypadku zmniejszonej elastyczności skóry i jej innych zmian anatomicznych związanych z wiekiem pacjenta, co utrudnia właściwe umieszczenie igły w warstwach skóry właściwej. Różnice w wielkości dawek szczepionki są nie do uniknięcia m.in. z tego powodu, że strzykawka jest napełniana bezpośrednio przed użyciem, a w czasie podawania substancji śródskórnie mogą także uwalniać się pozostające w strzykawce pęcherzyki powietrza.⁵ Ponadto materiał pozostawiony w igle i strzykawce po iniekcji (tzw. objętość martwa) stanowi istotny element strat podawanej dawki szczepionki.^{10,11} Czynniki te, wynikające w znacznej części z niestandardowej techniki wstrzyknięć śródskórnych, spowodowały małe zaangażowanie przemysłu farmaceutycznego w rozwijanie szczepionek śródskórnych – obecnie tylko BCG i szczepionka przeciwko wściekliznie są podawane techniką Mantoux.⁵

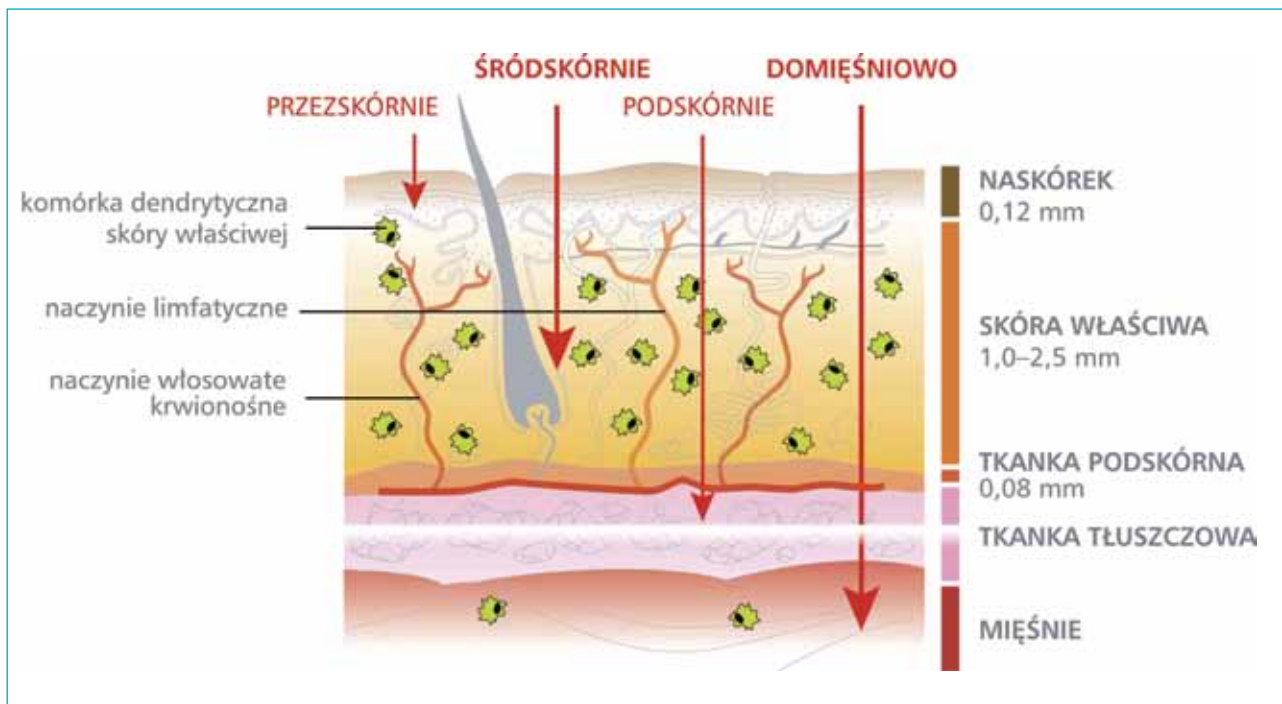
Zainteresowanie śródskórną drogą podawania szczepionek nastąpiło wraz z uzyskaniem pierwszych wyników kontrolowanych badań klinicznych z randomizacją i grupą kontrolną,¹² w których efekt immunologiczny przy podaniu śródskórnym był podobny do wywołanego przez szczepionki domięśniowe, nawet przy zredukowanej dawce szczepionek przeciwko: durowi brzuszemu,^{12,13} grypie,¹⁴ odrze,¹⁵ cholercie,¹⁶ wściekliznie,¹⁷ WZW B¹⁸

oraz poliomyelitis.¹⁹ Korzyści z zastosowania śródskórnej drogi immunizacji, mierzone wywoływana po szczepieniu odpowiedzią humoralną, nie były jednakowe w przypadku każdej z badanych szczepionek i prawdopodobnie w znacznym stopniu miał na to wpływ rodzaj zastosowanej szczepionki oraz mało precyzyjna technicznie metoda immunizacji śródskórnej.¹ Starożytni Chińczycy, Edward Jenner czy wspomniani wyżej badacze nie mieli także wiedzy o roli skóry w odpowiedzi immunologicznej ani o dużej koncentracji w niej komórek prezentujących antygen, co stanowi jeden z paradygmatów współczesnej wakcynologii.²⁰⁻²²

Współczesność

WHO podaje, że rocznie na świecie wykonuje się około 12 mld iniekcji, z czego 5% przypada na szczepionki ochronne.^{23,24} Droga immunizacji i skład szczepionki stanowią niezależne czynniki wpływające na skuteczność, czyli siłę i rodzaj wzbudzonej odpowiedzi immunologicznej.^{25,26} Metoda podania znacząco wpływa ponadto na wielkość dawki, bezpieczeństwo szczepionek oraz ich akceptację społeczną.¹

Większość szczepionek ochronnych jest obecnie powszechnie podawana drogą wstrzyknięć domięśniowych przy użyciu igły i strzykawki. Metody te są proste, umożliwiają podanie nawet dużych ilości szczepionki i zapewniają immunogenność dowiedzioną w badaniach klinicznych.^{1,24,27} Powszechnie uważa się, że



□ Rycina 1. Drogi podawania szczepionek ochronnych z uwzględnieniem grubości poszczególnych warstw skóry (dzięki uprzejmości firmy Sanofi Pasteur)

na wysoką immunogenność szczepionek domięśniowych wpływa prawdopodobnie efekt *depot* antygeny szczepionkowego umieszczonego głęboko w warstwie mięśniowej.^{28,29} Niedogodnością tej metody jest natomiast konieczność indywidualnego dostosowania długości i grubości igły do grubości tkanki podskórnej²⁹ oraz ryzyko transmisji zakażeń krwiopochodnych zarówno u osób szczepionych, jak i wykonujących szczepienia. Istotną barierą u osób wrażliwych, panicznie bojących się igły może też być ból.^{30,31} Wiele ostatnich danych wskazuje, że droga domięśniowa nie jest optymalna dla uzyskania efektów immunizacji z powodu małej liczby komórek immunokompetentnych, zwłaszcza komórek prezentujących antygen, rezydujących i migrujących do mięśni poprzecznych prążkowanych (ryc. 1).⁵ Zrozumiałe jest więc dążenie do wyprodukowania szczepionki zbliżonej do idealnej: bezpiecznej, taniej, skutecznej po jednorazowym podaniu i akceptowanej przez pacjenta.¹

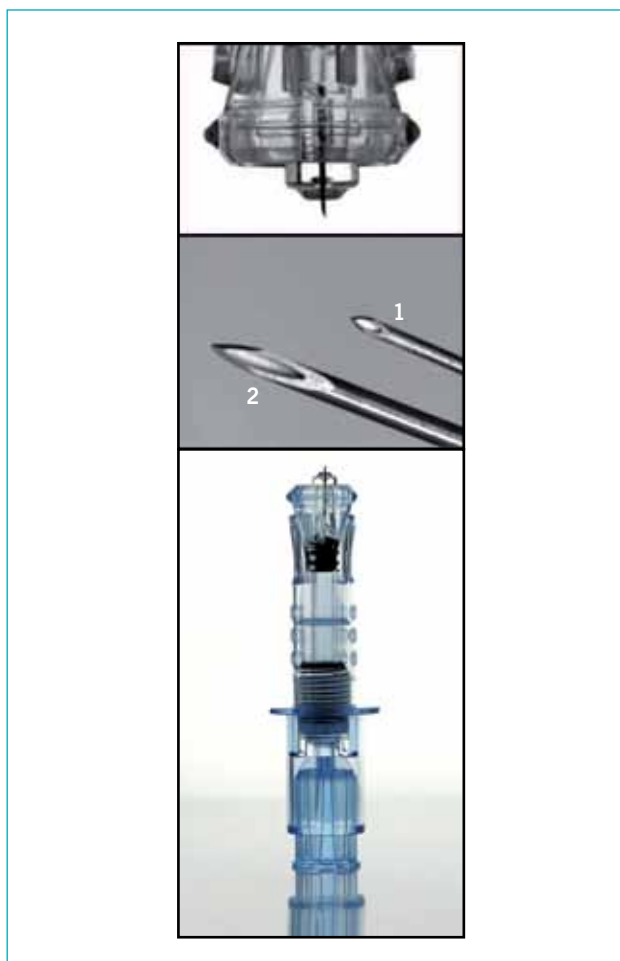
Skóra jako preferowane miejsce dla immunizacji

Naskórek i skóra właściwa, z uwagi na ich wyjątkową charakterystykę immunologiczną,^{22,27} są elementami o kluczowym znaczeniu dla skutecznej immunizacji, uważanymi obecnie za preferowane miejsca podawania szczepionek.^{22,32-35}

Budowa skóry (naskórek, skóra właściwa, tkanka podskórna) umożliwia jej funkcjonowanie jako skutecznej bariery fizycznej chroniącej przed wnikaniem szkodliwych substancji biologicznych, chemicznych i fizycznych (promienie UV) oraz utratą wody. Dzięki sieci skórnych naczyń krwionośnych, prawidłowej funkcji gruczołów potowych, odpowiedniej grubości tkanki podskórnej oraz obecności licznych zakończeń nerwowych (receptory bólu, dotyku, ciepła) skóra utrzymuje prawidłową temperatu-

rę ciała, bierze udział w syntezie witamin, melanogenezie i spełnia funkcję recepcyjną. Bariera fizyczna to niejedyna funkcja ochronna skóry, gdyż ważniejszy wydaje się obecnie jej udział w procesach immunostymulacji i immunoregulacji.^{36,37}

Poznanie roli poszczególnych elementów komórkowych skóry w procesach prezentacji antygeny i wzbudzaniu odpowiedzi immunologicznej spowodowało, że tkankę limfatyczną związaną ze skórą określa się jako układ immunologiczny skóry (SIS – *skin immune system*)³⁵. Jest to obszar stanowiący integralną część układu immunologicznego, zawierający wiele rezydujących i migrujących komórek immunokompetentnych, takich jak profesjonalne (komórki Langerhansa, komórki dendrytyczne skóry właściwej, makrofagi) i nieprofesjonalne (keratynocyty) komórki prezentujące antygen, limfocyty T, mastocyty, granulocyty, a także komórki śródbłonka oraz regionalne węzły chłonne (tab. 1). Ponadto gęsta sieć naczyń krwionośnych i limfatycznych skóry ułatwia szybki napływ tych komórek do drenujących węzłów chłonnych, aktywując dziewiczych komórek dendrytycznych rezydujących w węzłach i rozwój swoistej odpowiedzi immunologicznej.²² Obecność licznych komórek immunokompetentnych sprawia, że skóra inicjuje zarówno wrodzoną (nieswoistą antygenowo, bez pamięci immunologicznej), jak i nabytą (antygenowo swoistą, z pamięcią immunologiczną) odpowiedź immunologiczną, co z kolei zapewnia efektywniejsze zaangażowanie układu odpornościowego przy kolejnym kontakcie z antygenem i jest reakcją wywołaną dzięki szczepieniu ochronnemu.^{1,38,39} Najważniejszymi odkryciami ostatnich lat, które stworzyły podstawy teoretyczne współczesnych szczepień, były odkrycia w dziedzinie immunologii naskórka, roli prozapalnej keratynocytów w odpowiedzi na bodziec antygeno-



□ Rycina 2. System do mikrowstrzykiwania śródskórnego (BD Medical Pharmaceutical Systems/Sanofi Pasteur): porównanie mikroigły do stosowanych do szczepień domięśniowych (dzięki uprzejmości firmy Sanofi Pasteur)
Porównanie mikroigły (1) do igły stosowanej do szczepień domięśniowych (2)

wy, zwłaszcza funkcji komórek dendrytycznych – wyspecjalizowanej populacji komórek prezentujących antygen.⁴⁰

Komórki dendrytyczne w układzie immunologicznym skóry

Komórki dendrytyczne (DC – *dendritic cells*), funkcjonujące jako „wartownicy” układu immunologicznego, mają zdolność do rozpoznania antygenów środowiskowych i przekazywania informacji o napotkanych antygenach, zainicjowania rodzaju odpowiedzi immunologicznej, a także jej kontroli.^{41,42} Komórki dendrytyczne wychwytyują i przetwarzają cząsteczki lub wnikaające obce makromolekuły, następnie migrują drogą aferentnych naczyń limfatycznych do węzłów chłonnych, gdzie jako w pełni dojrzałe prezentują przetworzony antygen dziewiczym limfocytom T,^{41,43,44} wpływają bezpośrednio na powstanie efektorowych antygenowo-swoistych limfocytów T, aktywację limfocytów B i produkcję przeciwciał oraz generację długo żyjących limfocytów T i B pamięci.^{1,22,24,27,45-47}

W obrębie skóry zdrowej znaleziono kilka populacji komórek dendrytycznych, różniących się miejscem występowania, fenotypem, a także rolą w układzie immunologicznym:

- Komórki Langerhansa (LC – *Langerhans cells*) – rozpoznawane ze względu na występowanie na ich powierzchni cząsteczek HLA-DR, CD1a oraz langeryny (CD207), a także charakterystycznych ziaren Birbecka – wydłużonych wgłębień błony komórkowej do wnętrza komórki, o kształcie podobnym do rakiety tenisowej i funkcjonalnie związanych prawdopodobnie z wychwytem antygeny.^{48,49} Komórki te występują głównie w warstwie podstawnej i kolczystej naskórka oraz w niewielkiej liczbie w skórze właściwej. W naskórku stanowią 1-2% wszystkich komórek,⁵⁰ jednak horyzontalne ułożenie i obecność długich wypustek cytoplazmatycznych sprawiają, że tworzą gęstą sieć pokrywającą niemal 20% powierzchni naskórka. Ich gęstość waha się między 400 a 1000 komórek/mm² w zależności od okolicy ciała i stanu zapalnego skóry.⁴⁸
- Komórki Langerhansa są przedmiotem szczególnej uwagi jako populacja potencjalnych komórek docelowych dla szczepień przesnaskórkowych, zdolna do stymulacji silnej odpowiedzi komórkowej i indukowania cytotoksycznych limfocytów T w immunoterapii przeciwnowotworowej.^{51,52} Spełniają również funkcje immunoregulacyjne w mechanizmach tolerancji bakterii kolonizujących skórę⁵³ lub bezpośredniego hamowania proliferacji limfocytów T czy stymulacji regulatorowych limfocytów T (Treg).⁵⁴⁻⁵⁷ Uważa się, że komórki Langerhansa mają mniejsze znaczenie w odporności przeciwbakteryjnej i indukcji odpowiedzi humoralnej.²⁷

Komórki dendrytyczne skóry właściwej (dDC – *dermal dendritic cell*) – pełniące zasadniczą funkcję w odpowiedzi immunologicznej na antygeny docierające drogą śródskórną.

W skórze wyróżniono kilka subpopulacji tych komórek: są to głównie komórki dendrytyczne skóry niewykazujące ekspresji langeryny (*langerin-dDC*), o charakterystycznej ekspresji lektyny DC-SIGN/CD209, cząsteczek MHC klasy II, receptora CD36 (*scavenger receptor*) i różnicowanej ekspresji cząsteczki CD14,^{49,58} oraz poznana niedawno populacja komórek dendrytycznych skóry, na których obecna jest langeryna (*langerin+dDC*). Komórki dendrytyczne skóry właściwej znajdują się wokół naczyń włosowatych, poniżej błony podstawnej oraz w górnej części warstwy siateczkowatej skóry właściwej.^{49,59} Wszystkie populacje dDC (podobnie jak komórki Langerhansa) mają zdolność migracji do regionalnych węzłów chłonnych, gdzie docierają jako dojrzałe komórki dendrytyczne mające wysoką ekspresję cząsteczek MHC klasy II oraz cząsteczek kostymulujących niezbędnych do aktywacji dziewiczych limfocytów T. Wydaje się, że dDC są zasadniczym stymulatorem odpowiedzi humoralnej.⁶⁰ Komórki dendrytyczne skóry właściwej migrują do węzłów chłonnych w ciągu 2 dni po stymulacji skórnej antygenem, przy czym pierwsze komórki docierają do węzłów już po 24 h,^{27,43} dDC wędrują do zewnętrznej strefy przykorowej węzła, w bezpośrednie sąsiedztwo grudek limfatycznych i ośrodków rozmnażania limfocytów B,⁴³

w odpowiedzi na bodziec antygenowy mają zdolność produkcji IL-12, która poprzez aktywację limfocytów Th1 reguluje produkcję i wydzielanie limfocytów B.

W mechanizmach wzbudzenia odpowiedzi immunologicznej po śródskórnym podaniu antygeny biorą także udział (ryc. 1):

- prekursorzy komórek dendrytycznych krwi obwodowej rekrutowane do skóry przez fragmenty antygenowe pochodzące z wirusów i bakterii, a także antygeny szczepionek śródskórnych. Zjawisko to, zależne od chemokiny MIP3 α (CCL20) produkowanej przez komórki naskórka w odpowiedzi na obce antygeny, jest istotne dla aktywacji i różnicowania limfocytów T w komórki efektorowe, zwłaszcza o fenotypie CD8+ (supresorowych i cytotoksycznych).²⁷
- komórki dendrytyczne rezydujące w węzłach chłonnych, uczestniczące w pochłanianiu małych (nanocząsteczki o średnicy do 25 nm) cząstek antygenowych docierających do węzłów chłonnych bez udziału DC skóry, drogą bezpośredniego drenażu limfatycznego.⁶¹ Możliwe jest ponadto zjawisko przechwycenia antygeny od migrujących dDC, co wydaje się mieć znaczenie dla wzmocnienia prezentacji antygeny i następowej aktywacji limfocytów T przez większą sieć komórek dendrytycznych rezydujących w węzłach.⁶² W przypadku śródskórnego podania szczepionek w znacznym stopniu dochodzi do szybkiego transportu wolnych cząstek antygenowych drogą naczyń limfatycznych, podczas którego antygeny osiągają drenujące węzły chłonne już po 2 h od iniekcji. Mechanizm ten jest wymuszony prawdopodobnie zwiększonym ciśnieniem tkankowym spowodowanym iniekcją śródskórną, przepływem i absorpcją w naczyniach limfatycznych.⁶³

Współczesne kierunki rozwoju szczepionek – szczepionki doskórne

Powszechny wzrost zagrożenia pandemią grypy spowodowany pojawieniem się wysoce wirulentnych wirusów grypy ptasiej⁶⁴ oraz obserwowany brak odpowiedniej liczby dawek szczepionki przeciwko grypie na rynku wielu krajów spowodowały, że zwrócono uwagę na nowe technologie, które zapewniałyby uzyskanie odpowiedniego stężenia przeciwciał odpornościowych przy zastosowaniu zredukowanej dawki szczepionki. Innowacyjne rozwiązania dotyczą zastosowania adiuwantów zwiększających immunogenność (np. toksyna cholery, toksyna *E. coli*, adiuwant MF59)¹ oraz alternatywnych dróg podawania szczepionek, dokładnie w miejsce nagromadzenia tkanki limfatycznej. W ostatnich latach ponownie zwraca się uwagę na możliwość doskórnego podania szczepionki, jednak przy zastosowaniu nowoczesnych systemów wstrzykiwania.⁶⁵ Opracowano różne projekty jednorazowych mikroigieł dla minimalnie inwazyjnego, lecz jednocześnie dokładnego i powtarzalnego dostarczenia dawki szczepionki (i innych związków chemicznych) do naskórka lub skóry właściwej, takie jak:⁶

- siatka z licznymi mikroigłami o długości od 150-700 μm , przeznaczonymi do przedziurawienia lub zadrapania warstwy rogowej naskórka, np. przed nałożeniem na skórę płatka celulozowego nasączonego antygenem szczepionkowym

- mikroigły o długości od 220-700 μm , powleczone szczepionką liofilizowaną rozpuszczalną w skórze w ciągu kilku sekund
- mikroigły (2 μm) zbudowane z polimeru połączonego ze szczepionką w kapsułce, rozpuszczalne w całości po umieszczeniu w skórze przez kilka minut
- mikroigły wydrążone w środku, o długości 1,0 do 1,5 mm i grubości 30 do 34 G, przeznaczone do śródskórnego dostarczenia substancji płynnych (np. insulina, szczepionki przeciwko grypie, wąglikowi).

Metody immunizacji drogą naskórną lub przelnaskórkową są obecnie w trakcie badań laboratoryjnych i przedklinicznych, lecz dotychczasowe wyniki wydają się bardzo zachęcające, głównie ze względu na prostotę wykonania, łatwość transportu i przechowywania, co jest nie bez znaczenia w szczepieniach masowych.^{6,21,26}

Szczepionki śródskórne

Wiele danych wskazuje na to, że to szczepionki śródskórne (*intradermal vaccines*), mające największą dokumentację dotyczącą skuteczności immunologicznej, mogą być realną alternatywą dla szczepień domięśniowych i podskórnych.^{4,22,65-70} Konieczne jest jednak zastosowanie systemów do umieszczania szczepionki dokładnie w skórze właściwej ze względu na obserwowane różnice w odpowiedzi immunologicznej między skórą właściwą a naskórkiem. Przykładowo dostarczenie do naskórka antygeny z adiuwantem białka toksyny cholery skutkuje zapoczątkowaniem swoistej odpowiedzi humoralnej lub odpowiedzi supresorowych limfocytów T, natomiast tolerancją immunologiczną zależną od limfocytów T regulatorowych (Treg) przy braku adiuwantu białkowego.⁷¹⁻⁷⁵ Wykazano ponadto, że niektóre szczepionki (np. żywa atenuowana szczepionka przeciwko odrze) podane do naskórka, nawet przy uprzednim uszkodzeniu warstwy rogowej, nie indukują produkcji swoistych przeciwciał poszczepiennych.⁷⁶

Szczepionki śródskórne spełniają współczesne oczekiwania dotyczące efektu oszczędzającego dawkę (*sparing effect*). Udowodniono, że śródskórne podanie zredukowanej (nawet do 1/10) dawki szczepionki domięśniowej jest równoważne pełnej dawce szczepionki podawanej powszechnie domięśniowej przeciwko wścieklicznie i WZW B,^{4,77} natomiast mniejszy (lecz istotny w porównaniu ze szczepionkami domięśniowymi) efekt oszczędzający dawkę występuje w przypadku szczepionek przeciw grypie u zdrowych dorosłych,^{69,78-80} dzieci^{81,82} i osób starszych.^{83,84} Na zróżnicowane wyniki badań miała prawdopodobnie wpływ uprzednia stymulacja układu immunologicznego przez naturalne zakażenia lub zastosowany system do śródskórnego podawania szczepionki.⁶⁹

Ważnych informacji dostarczyły badania kliniczne u osób z chorobami przewlekłymi, u których po uprzednio stosowanych szczepionkach domięśniowych nie wykazywano odpowiedniego poziomu przeciwciał poszczepiennych – u osób z niewydolnością nerek (nawet u tych poddawanych hemodializie) szczepionki śródskórne przeciwko WZW B indukowały lepszą odpowiedź immunologiczną niż szczepienia domięśniowe.^{66,77}



1. Zdjąć kapturek igły z systemu do mikrowstrzykiwania. Nie odpowietrzać igły.



2. Trzymać system, kładąc kciuk i palec środkowy tylko na miejscu na palce. Palec wskazujący pozostaje wolny.



3. Krótkim, szybkim ruchem wbić igłę w mięsień naramienny, prostopadle do powierzchni skóry.



4. Po wbiciu mikroigły, lekko dociskać system do powierzchni skóry i wykonać wstrzyknięcie, naciskając tłoczek palcem wskazującym. Wyjąć igłę ze skóry.



5. Kciukiem tej samej ręki, którą wykonano wstrzyknięcie, bardzo mocno nacisnąć tłoczek w celu wysunięcia osłony igły – będzie można usłyszeć kliknięcie i wysunie się osłona igły.

□ Rycina 3. System do mikrowstrzykiwania śródskórnego (BD Medical Pharmaceutical Systems/Sanofi Pasteur): skrócona instrukcja wykonania wstrzyknięcia (dzięki uprzejmości firmy Sanofi Pasteur)

System do mikrowstrzykiwania

Wprowadzono ampułkostrzykawkę z oryginalnym systemem do wstrzyknięć śródskórnych opracowanym dla szczepionek

przeciw grypie. W BD Microinjection System (BD Medical Pharmaceutical Systems/Sanofi Pasteur) zastosowano specjalnie zaprojektowaną mikroigłę o grubości 30G (średnica we-

wewnętrzna 0,31 mm), którą ustawia się prostopadle w skórze (ryc. 2). Mikroigła jest umocowana w systemie podającym, który ogranicza głębokość penetracji do 1,5 mm, i połączona trwałe ze szklaną lub plastikową strzykawką ze stałą dawką szczepionki (0,1 ml) oraz z systemem chroniącym igłę po wstrzyknięciu.⁵ Wykazano łatwość stosowania tej ampułkostrzykawki (ryc. 3) nawet przez nieprzeszkolony personel, który wykonywał wstrzyknięcia po raz pierwszy,⁵ jednocześnie przy wysokiej powtarzalności wykonywanych szczepień i precyzji miejsca podania, tj. dokładnie do warstwy brodawkowatej i siateczkowatej skóry właściwej. Niezwykle istotna jest długość zastosowanej igły: na podstawie badań doświadczalnych wykazano, że średnia grubość skóry (z założeniem przedziału ufności 95%) w okolicy mięśnia naramiennego (preferowane miejsce dla wstrzyknięć śródskórnych) u osób dorosłych jest większa niż długość igły (1,5 mm) niezależnie od płci, wieku, pochodzenia etnicznego i wskaźnika masy ciała (BMI).^{86,87} Wyniki badań klinicznych oceniających humoralną odpowiedź immunologiczną z zastosowaniem tego systemu dowodzą jego skuteczności co najmniej równej szczepieniom domięśniowym przy użyciu mniejszej dawki szczepionki lub lepszej (wyższe seroprotekcja, serokonwersja) przy dawkach równych w przypadku osób starszych.^{83,84} Nie bez znaczenia jest także większy komfort pacjenta i zmniejszenie strachu przed wstrzyknięciem i bólem, co równocześnie przekłada się na zwiększenie akceptacji szczepień.^{85,88}

Piśmiennictwo:

1. Lambert PH, Laurent PE. Intradermal vaccine delivery: will new delivery systems transform vaccine administration? *Vaccine* 2008;26(26):3197-3208.
2. Plotkin SL, Plotkin SA. A short story of vaccination. W: Plotkin SA, Orenstein WA, Offit PA (red.). *Vaccines* 5th ed. Elsevier-Saunders, Philadelphia 2008:1-16.
3. Bricks LF. Percutaneous or intradermal BCG vaccine? *J Pediatr (Rio J)* 2004;80(2):93-98.
4. Briggs DJ, Banzhoff A, Nicolay U, et al. Antibody response of patients after postexposure rabies vaccination with small intradermal doses of purified chick embryo cell vaccine or purified Vero cell rabies vaccine. *Bull World Health Organ* 2000;78(5):693-698.
5. Laurent PE, Bonnet S, Alchas P, et al. Evaluation of the clinical performance of a new intradermal vaccine administration technique and associated delivery system. *Vaccine* 2007;25(52):8833-8842.
6. Prausnitz MR, Miskzta JA, Cormier M, et al. Microneedle-based vaccines. *Curr Top Microbiol Immunol* 2009;333:369-393.
7. Rubin BA. A note on the development of the bifurcated needle for smallpox vaccination. *WHO Chron* 1980;34(5):180-181.
8. Kravitz H. A simplified technique for vaccination against smallpox. *Pediatrics* 1961;27:219-226.
9. Flynn PM, Shenep JL, Mao L, et al. Influence of needle gauge in Mantoux skin testing. *Chest* 1994;106(5):1463-1465.
10. de La Rocque F, Cohen R, Vie Le Sage F, et al. French paediatrician and general practitioner's survey about actual and future BCG use *Arch Pediatr* 2005;12(11):1665-1669.
11. Strauss K, van Zundert A, Frid A, et al. Pandemic influenza preparedness: the critical role of the syringe. *Vaccine* 2006;24(22):4874-4882.
12. Tuft L. Active immunization against typhoid fever, with particular reference to intradermal method. *J Lab Clin Med* 1931;16:552-556.
13. Tuft L, Yage E, Rodgers S. Comparative study of the antibody response after various methods of administration of mixed typhoid vaccine. *J Infect Dis* 1932;5:95.
14. Van Gelder D, Greenspan F, Dufresne N. Influenza vaccination: comparison of intracutaneous and subcutaneous methods. *Noval Med Bull* 1947;47:197-206.
15. Cutts FT, Clements CJ, Bennett JV. Alternative routes of measles immunization: a review. *Biologicals* 1997;25(3):323-338.
16. McBean AM, Agle AN, Compaore P, et al. Comparison of intradermal and subcutaneous routes of cholera vaccine administration. *Lancet* 1972;1(7749):527-529.
17. Nicholson KG, Prestage H, Cole PJ, et al. Multisite intradermal antirabies vaccination. Immune responses in man and protection of rabbits against death from street virus by post-exposure administration of human diploid-cell-strain rabies vaccine. *Lancet* 1981;2(8252):915-918.

Podsumowanie

Szczepionki podawano śródskórnie już w czasach starożytnych, jednak dopiero rozwój immunologii pozwolił na poznanie mechanizmów wzbudzenia odporności przeciwko drobnoustrojom chorobotwórczym i roli układu immunologicznego skóry w rozwoju swoistej odpowiedzi immunologicznej po doskórnym podaniu antygenów szczepionkowych. Istotną rolę w tej odpowiedzi odgrywa gęsta siatka skórnych naczyń krwionośnych i chłonnych oraz licznych komórek dendrytycznych – profesjonalnych komórek prezentujących antygen – wyspecjalizowanych w rozpoznawaniu czynników środowiskowych, przekazywaniu informacji o napotkanych antygenach, inicjowaniu odpowiedzi immunologicznej, a także jej kontroli.

Wynikiem poszukiwania nowych metod podawania szczepionek ochronnych zapewniających skuteczną immunizację przy zastosowaniu zredukowanej dawki antygenów szczepionkowych jest opracowanie systemów umożliwiających bezpośredni dostęp do układu immunologicznego skóry. Wiele danych wskazuje, że współczesne szczepienia śródskórne dzięki powtarzalności głębokości penetracji do skóry, dokładności dostarczanej dawki antygeny oraz wysokiej skuteczności immunologicznej mogą być realną alternatywą dla powszechnie stosowanych szczepień domięśniowych i podskórnych.

Adres do korespondencji: dr n. med. Małgorzata Bartkowiak-Emeryk, Katedra i Zakład Immunologii Klinicznej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie, ul. Jaczewskiego 8, 20-950 Lublin, e-mail: bartkowiak-emeryk@tlen.pl

18. Miller KD, Gibbs RD, Mulligan MM, et al. Intradermal hepatitis B virus vaccine: immunogenicity and side-effects in adults. *Lancet* 1983;2(8365-66):1454-1456.
19. Samuel BU, Cherian T, Sridharan G, et al. Immune response to intradermally injected inactivated poliovirus vaccine. *Lancet* 1991;338(8763):343-344.
20. Larregina AT, Falo LD Jr. Changing paradigms in cutaneous immunology: adapting with dendritic cells. *J Invest Dermatol* 2005;124(1):1-12.
21. Huang CM. Topical vaccination: the skin as a unique portal to adaptive immune responses. *Semin Immunopathol* 2007;9(1):71-80.
22. Kupper TS, Fuhlbrigge RC. Immune surveillance in the skin: mechanisms and clinical consequences *Nat Rev Immunol* 2004;4(3):211-222.
23. Kermod M. Unsafe injections in low-income country health settings: need for injection safety promotion to prevent the spread of blood-borne viruses. *Health Promot Int* 2004;19(1):95-103.
24. Mitragotri S. Immunization without needles. *Nat Rev Immunol* 2005;5(12):905-916.
25. Glenn GM, Kenney RT, Ellingsworth LR, Frech SA, Hammond SA, Zoetewij JP. Transcutaneous immunization and immunostimulant strategies: capitalizing on the immunocompetence of the skin. *Expert Rev Vaccines* 2003; 2(2): 253-267.
26. Azad N, Rojanasakul Y. Vaccine delivery-current trends and future. *Curr Drug Deliv* 2006;3(2):137-146.
27. Nicolas JF, Guy B. Intradermal, epidermal and transcutaneous vaccination: from immunology to clinical practice. *Expert Rev Vaccines* 2008;7(8):1201-1214.
28. Powell MF. Drug delivery issues in vaccine development. *Pharm Res* 1996;13(12):1777-1785.
29. Zuckerman JN. The importance of injecting vaccines into muscle. Different patients need different needle sizes. *BMJ* 2000;321(7271):1237-1238.
30. Jacobson RM, Swan A, Adegbenro A, et al; Vaccine Research Group. Making vaccines more acceptable – methods to prevent and minimize pain and other common adverse events associated with vaccines. *Vaccine* 2001;19(17-19):2418-2427.
31. Nir Y, Paz A, Sabo E, et al. Fear of injections in young adults: prevalence and associations. *Am J Trop Med Hyg* 2003;68(3):341-344.
32. Streilein JW. Skin-associated lymphoid tissues (SALT): the next generation. *Bos JD (red.) Skin Immune System (SIS)*. CRC Press, Boca Raton, FL, 1991:25.
33. Sontheimer RD. Perivascular dendritic macrophages as immunological constituents of the human dermal peri-vascular unit. *J Invest Dermatol* 1989;93:96-101.
34. Nickoloff BJ. *Dermal Immune System*. Nickoloff BJ (red.). CRC Press, Boca Raton, FL, 1993:25.

35. Bos JD, Kapsenberg ML. The skin immune system: progress in cutaneous biology. *Immunol Today* 1993;14(2):75-78.
36. Placek W. Rozwój, budowa i fizjologia skóry oraz podstawy symptomatologii dermatologicznej. W: Miklaszewska M, Wąsik F (red.). *Dermatologia pediatria*, Tom I. Volumed Wrocław 1999:1-23.
37. Girolomoni G, Tessari G, Bos JD. The skin as an immunologic organ. Sarzi-Puttini P, Doria A, Girolomoni G, Kuhn A (red.). *The skin in systemic autoimmune diseases*. Elsevier 2006:25-44.
38. Schwartz T. Skin immunity. *Br J Dermatol* 2003;149(Suppl):2-4.
39. Medzhitov R, Jaweaw CA Jr. Innate immunity: impact on the adaptive immune response. *Curr Opin Immunol* 1997;9:4.
40. Chapel H, Haeney M, Misbah S, et al. Choroby skóry. W: *Immunologia kliniczna*. Chapel H, Haeney M, Misbah S, et al. (red.). Wydanie polskie. Czelej, Lublin 2009: 223-238.
41. Rossi M, Young JW. Human dendritic cells: potent antigen-presenting cells at the crossroads of innate and adaptive immunity. *J Immunol* 2005;175(3):1373-1381.
42. Adler HS, Steinbrink K. Tolerogenic dendritic cells in health and disease: friend and foe! *Eur J Dermatol* 2007;17(6):476-491.
43. Kissenpfennig A, Henri S, Dubois B, et al. Dynamics and function of Langerhans cells in vivo: dermal dendritic cells colonize lymph node areas distinct from slower migrating Langerhans cells. *Immunity* 2005;22(5):643-654.
44. Kissenpfennig A, Malissen B. Langerhans cells-revisiting the paradigm using genetically engineered mice. *Trends Immunol* 2006;27(3):132-139.
45. Steinman RM, Bancheau J. Taking dendritic cells into medicine. *Nature* 2007;449(7161):419-426.
46. Romani N, Thurnher M, Idoyaga J, et al. Targeting of antigens to skin dendritic cells: possibilities to enhance vaccine efficacy. *Immunol Cell Biol* 2010;88(4):424-430.
47. Steinman RM. Dendritic cells: versatile controllers of the immune system. *Nat Med* 2007;13(10):1155-1159.
48. von Bubnoff D, Bausinger H, Matz H, et al. Human epidermal langerhans cells express the immunoregulatory enzyme indoleamine 2,3-dioxygenase. *J Invest Dermatol* 2004;123(2):298-304.
49. Toebak MJ, Gibbs S, Bruynzeel DP, et al. Dendritic cells: biology of the skin. *Contact Dermatitis* 2009;60(1):2-20.
50. Mutyambizi K, Berger CL, Edelson RL. The balance between immunity and tolerance: the role of Langerhans cells. *Cell Mol Life Sci* 2009;66(5):831-840.
51. Seo N, Tokura Y, Nishijima T, et al. Percutaneous peptide immunization via corneum barrier-disrupted murine skin for experimental tumor immunoprophylaxis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000;97(1):371-376.
52. Yagi H, Hashizume H, Horibe T, et al. Induction of therapeutically relevant cytotoxic T lymphocytes in humans by percutaneous peptide immunization. *Cancer Res* 2006;66(20):1036-1044.
53. van der Aar AM, Sylva-Steenland RM, Bos JD, et al. Loss of TLR2, TLR4, and TLR5 on Langerhans cells abolishes bacterial recognition. *J Immunol* 2007; 178(4): 1986-1990.
54. Igyarto BZ, Kaplan DH. The evolving function of Langerhans cells in adaptive skin immunity. *Immunol Cell Biol* 2010;88(4):361-365.
55. Lutz MB, Döhler A, Azukizawa H. Revisiting the tolerogenicity of epidermal Langerhans cells. *Immunol Cell Biol* 2010;88(4):381-6.
56. Lutz MB, Kurts C. Induction of peripheral CD4+ T-cell tolerance and CD8+ T-cell cross-tolerance by dendritic cells. *Eur J Immunol*. 2009;39(9):2325-30.
57. Stoitzner P. The Langerhans cell controversy: are they immunostimulatory or immunoregulatory cells of the skin immune system. *Immunol Cell Biol* 2010;88:348-350.
58. Valladeau J, Saeland S. Cutaneous dendritic cells. *Semin Immunol* 2005;17(4):273-283.
59. Galli E, Cicconi R, Rossi P, et al. Atopic dermatitis: molecular mechanisms, clinical aspects and new therapeutic approaches. *Curr Mol Med* 2003;3(2):127-138.
60. Ueno H, Schmitt N, Palucka AK, et al. Dendritic cells and humoral immunity in humans. *Immunol Cell Biol* 2010;88(4):376-380.
61. Reddy ST, van der Vlies AJ, Simeoni E, et al. Exploiting lymphatic transport and complement activation in nanoparticle vaccines. *Nat Biotechnol* 2007; 25(10): 1159-1164.
62. Allan RS, Waithman J, Bedoui S, et al. Migratory dendritic cells transfer antigen to a lymph node-resident dendritic cell population for efficient CTL priming. *Immunity* 2006;25(1):153-162.
63. Oussoren C, Storm G. Liposomes to target the lymphatics by subcutaneous administration. *Adv Drug Deliv Rev* 2001;50(1-2):143-156.
64. Fauci AS. Pandemic influenza threat and preparedness. *Emerg Infect Dis* 2006;12(1):73-77.
65. La Montagne JR, Fauci AS. Intradermal influenza vaccination—can less be more? *N Engl J Med* 2004;351(22):2330-2332.
66. Chau KF, Cheng YL, Tsang DN, et al. Efficacy and side effects of intradermal hepatitis B vaccination in CAPD patients: a comparison with the intramuscular vaccination. *Am J Kidney Dis* 2004;43(5):910-917.
67. Brooks JH, Criepl LH, Ruben FL. Intradermal administration of bivalent and monovalent influenza vaccines. *Ann Allergy* 1977;39(2):110-112.
68. Belshe RB, Newman FK, Cannon J, et al. Serum antibody responses after intradermal vaccination against influenza. *N Engl J Med* 2004;351(22):2286-2294.
69. Belshe RB, Newman FK, Wilkins K, et al. Comparative immunogenicity of trivalent influenza vaccine administered by intradermal or intramuscular route in healthy adults. *Vaccine* 2007; 25(37-38): 6755-6763.
70. Kenney RT, Frech SA, Muenz LR, et al. Dose sparing with intradermal injection of influenza vaccine. *N Engl J Med* 2004;351(22):2295-2301.
71. Spergel JM, Mizoguchi E, Brewer JP, et al. Epicutaneous sensitization with protein antigen induces localized allergic dermatitis and hyperresponsiveness to methacholine after single exposure to aerosolized antigen in mice. *J Clin Invest* 1998;101(8):1614-1622.
72. Glenn GM, Rao M, Matyas GR, et al. Skin immunization made possible by cholera toxin. *Nature* 1998;391(6670):851.
73. Glenn GM, Scharton-Kersten T, Vassell R, et al. Transcutaneous immunization with cholera toxin protects mice against lethal mucosal toxin challenge. *J Immunol* 1998;161(7):3211-3214.
74. John M, Bridges EA, Miller AO. Comparison of mucosal and systemic humoral immune responses after transcutaneous and oral immunization strategies. *Vaccine* 2002;20(21-22):2720-2726.
75. Bynoe MS, Evans JT, Viret C, et al. Epicutaneous immunization with autoantigenic peptides induces T suppressor cells that prevent experimental allergic encephalomyelitis. *Immunity* 2003;19(3):317-328.
76. Etchart N, Hennino A, Friede M, et al. Safety and efficacy of transcutaneous vaccination using a patch with the live-attenuated measles vaccine in humans. *Vaccine* 2007;25(39-40):6891-6899.
77. Somboonsilp W, Eiam-Ong S, Tungsanga K, et al. Immune response of intradermal hepatitis B vaccination at lower dose versus intramuscular vaccination at double standard dose in predialytic chronic renal failure patients. *J Med Assoc Thai* 2003;86(12):1122-1127.
78. Burrell C, Booy R, Wood N, et al. Immunogenicity of a reduced dose of A/H3N2 in the 2005 southern hemisphere formulation of inactivated split influenza vaccine. *Influenza Other Respi Viruses* 2008;2(3):93-98.
79. Künzi V, Klap JM, Seiberling MK, et al. Immunogenicity and safety of low dose virosomal adjuvanted influenza vaccine administered intradermally compared to intramuscular full dose administration. *Vaccine* 2009;27(27):3561-3567.
80. Leroux-Roels I, Vets E, Freese R, et al. Seasonal influenza vaccine delivered by intradermal microinjection: A randomised controlled safety and immunogenicity trial in adults. *Vaccine* 2008;26(51):6614-6619.
81. Chiu SS, Peiris JS, Chan KH, et al. Immunogenicity and safety of intradermal influenza immunization at a reduced dose in healthy children. *Pediatrics* 2007;119(6):1076-1082.
82. Sugimura T, Ito Y, Tananari Y, et al. Improved antibody responses in infants less than 1 year old using intradermal influenza vaccination. *Vaccine* 2008;26(22):2700-2705.
83. Holland D, Booy R, De Looze F, et al. Intradermal influenza vaccine administered using a new microinjection system produces superior immunogenicity in elderly adults: a randomized controlled trial. *J Infect Dis* 2008;198(5):650-658.
84. Arnou R, Icardi G, De Decker M, et al. Intradermal influenza vaccine for older adults: a randomized controlled multicenter phase III study. *Vaccine* 2009;27(52):7304-7312.
85. IDfIU pierwsza szczepionka przeciw grypie do podawania śródskórnego. Folder medyczny dla lekarzy. Sanofi Pasteur. kwiecień 2009, IDF/FM2/04/09.
86. Laurent A, Mistretta F, Bottiglioli D, et al. Echographic measurement of skin thickness in adults by high frequency ultrasound to assess the appropriate microneedle length for intradermal delivery of vaccines. *Vaccine* 2007;25(34):6423-6430.
87. Seidenari S, Giusti G, Bertoni L, et al. Thickness and echogenicity of the skin in children as assessed by 20-MHz ultrasound. *Dermatology* 2000;201(3):218-222.
88. Reygrobellet C, Viala-Danten M, Meunier J, et al. Perception and acceptance of intradermal influenza vaccination: Patient reported outcomes from phase 3 clinical trials. *Hum Vaccin* 2010;6(4):1-10.

Pytania:

1. Przełomowe dla współczesnej wakcynologii eksperymenty Edwarda Jennera dotyczyły:

1. Śródskórnego uodparniania wirusem krowianki przeciwko ospie prawdziwej
2. Śródskórnego uodparniania zmutowanym wirusem wścieklizny
3. Odkrycia odporności humoralnej w zwalczaniu zakażeń bakteryjnych
4. Określenia struktury przeciwciał

2. Szczepienia śródskórne są wykonywane w Europie:

1. Od ponad 1000 lat
2. Od ponad 200 lat
3. Od 1931 r.
4. Od końca XX w.

3. Technika Mantoux wykonywania wstrzyknięć śródskórnych jest wykonywana w:

1. Diagnostyce gruźlicy
2. Diagnostyce alergicznych chorób skóry
3. Szczepieniach przeciwko wściekliźnie
4. Wszystkich powyższych

4. Szczepienia śródskórne w Polsce wykonuje się przeciwko:

1. Wściekliźnie
2. Gruźlicy
3. Grypie
4. Wszystkim powyższym

5. Układ immunologiczny skóry składa się:

1. Tylko z naczyń limfatycznych
2. Tylko z naczyń limfatycznych doprowadzających i regionalnych węzłów chłonnych
3. Tylko z naczyń limfatycznych, regionalnych węzłów chłonnych oraz komórek prezentujących antygen
4. Żadna z odpowiedzi nie jest prawdziwa

6. Komórkami najskuteczniejszymi w prezentacji antygeny podanego śródskórnie są:

1. Limfocyty T
2. Limfocyty B
3. Komórki dendrytyczne
4. Makrofagi

7. Komórki dendrytyczne najliczniej rezydujące w obrębie skóry właściwej to:

1. Komórki Langerhansa
2. Komórki dendrytyczne skóry
3. Prekursory komórek dendrytycznych
4. Plazmocytoidalne komórki dendrytyczne

8. Mechanizmy szczepień śródskórnych obejmują wychwytywanie, przetwarzanie antygeny szczepionkowego i jego prezentację dziewiczym limfocytom T w węzłach chłonnych przez:

1. Komórki dendrytyczne skóry
2. Prekursory komórek dendrytycznych napływających z krwi obwodowej
3. Komórki dendrytyczne węzłów chłonnych
4. Wszystkie powyższe

9. Szczepienia śródskórne przeciwko grypie wykonuje się współcześnie za pomocą:

1. Mikroigieł o długości od 150-700 μm oraz płatków celulozowych nasączonych antygenem szczepionkowym
2. Mikroigły rozpuszczalnej w skórze o długości od 220-700 μm , powleczonej szczepionką liofilizowaną
3. Mikroigły o długości 1,0-1,5 mm połączonej ze strzykawką zawierającą stałą dawkę szczepionki
4. Rozdwójonej igły Rubina

10. Charakterystyczne cechy śródskórnej szczepionki przeciw grypie to:

1. Łatwość wykonywania wstrzyknięcia we właściwy sposób
2. Precyzyjna wielkość podanej dawki
3. Efekt oszczędzający dawkę
4. Wszystkie powyższe