

İlaç Allerjilerinin Tanısında Kullanılan Testler

Tests Used for the Diagnosis of Drug Allergies: Review

Dr. Nihal METE GÖKMEN,^a
Dr. Ramazan ERSOY^a

^aİç Hastalıkları ABD, İmmünoloji ve Allerji BD, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, İZMİR

Geliş Tarihi/Received: 31.10.2006
Kabul Tarihi/Accepted: 15.02.2007

Yazışma Adresi/Correspondence:
Dr. Ramazan ERSOY
Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi,
İç Hastalıkları ABD,
İmmünoloji ve Allerji BD, İZMİR
ersoyramazan@hotmail.com

ÖZET İlaç allerjisi tanısında ayrıntılı anamnez ve fizik muayene esastır. İn vivo ve in vitro testler, ilaç duyarlılığını göstermek için kullanılabilir. İn vivo testler, deri testleri ve provokasyon testleridir. Prick, intradermal testler IgE aracılı erken tipte ilaç allerji reaksiyonlarının tanısında patch ve fotopatch testleri, gecikmiş tip reaksiyonların tanısında kullanılır. İlaç kullanımı ardından ürtiker/anjiyoödem, rinit, konjonktivit, bronkospazm veya hipotansiyon oluştu ise prick test ve intradermal testler yapılmalıdır. Tanıda hikaye ile birlikte provokasyon testleri altın standart kabul edilmektedir.

İN vitro testler, spesifik IgE ölçümü, lenfosit proliferasyon analizi, allerjenle uyarılan mediatör salınım testleri ve flow sitometrik bazofil aktivasyon testidir.

Spesifik IgE ölçümü, cilt testlerine göre duyarlılığı düşük, özgüllüğü yüksek bir testtir. Ancak daha pahalı yöntemlerdir.

Lenfosit transformasyon testi (LTT) mekanizmasında T lenfositlerin aracılık ettiği ilaç allerjilerinin tanısında kullanılmaktadır.

Allerjenle indüklenen mediatör salınım testinde allerjenle uyarılan periferik kan bazofillerinden açığa çıkan inflamatuvar mediatörler ölçülür. Periferik kandan izole edilen lökositlerde (bazofillerde) in vitro allerjen stimülasyonu sonrası ortaya çıkan sisteinil lökotrien (Cys-LT) düzeyi "Cellular antigen stimulation test (CAST)" tekniği ile ölçülür. Allerjen stimülasyonu sonrası aktifleşen bazofil hücre membranında ekspresyonu artan CD63 ve CD203c gibi yüzey proteinlerinin flow sitometri ile ölçülmesi allerjik hastalıkların tanısında kullanılmaktadır.

Bu makalede ilaç allerjisi tanısında kullanılan testlerin uygulama şekilleri, avantaj, dezavantajları ve karşılaşılabilecek sorunlar tartışılmıştır.

Anahtar Kelimeler: İlaç allerjisi; deri testi; flow sitometri; nasal provokasyon

ABSTRACT The diagnosis of a drug allergy is mainly based on a very detailed history and physical examination. In addition, several in vitro or in vivo tests can be performed to demonstrate sensitization to a certain drug. In vivo tests are skin tests and provocation tests.

While prick tests and intradermal tests are used for the diagnosis of IgE-mediated allergic reactions, patch and photopatch tests are preferred for the diagnosis of delayed type reactions. If immediate type allergic reactions such as urticaria, angioedema, rhinitis, conjunctivitis, bronchospasm, or hypotension occur soon after drug use, the prick test and the intradermal test should be performed.

The gold standard for the diagnosis of drug allergy is the combination of relevant history and challenge test with the suspected drug.

In vitro tests, used for the diagnosis of patients with drug allergy, are drug-specific IgE, the lymphocyte transformation test and allergen induced mediator release tests. Specific IgE has a lower sensitivity and a higher specificity than skin tests. However, it is much more expensive than skin tests.

The lymphocyte transformation test (LTT) is used to determine drug sensitivity mediated by T cells.

Allergen-induced mediator release assays analyze the mediator, which are released from effector cells, most probably basophiles, when stimulated in vitro with serial dilutions of the putative allergens.

Release of Cys-LT produced in vitro by isolated peripheral blood leukocytes after drug allergen stimulation, is measured by the cellular antigen stimulation test (CAST) technique.

Flow cytometric basophile activation test (BAT) detects the enhancement of the percent expression of surface CD63 and CD203c markers. This technique is increasingly used in the in vitro diagnosis of drug allergy. In this review, in vitro and in vivo tests used to detect drug sensitization are discussed.

Key Words: Drug hypersensitivity; skin tests; flow cytometry; nasal provocation tests

İlaçlara bağlı gelişen immünolojik reaksiyonların şüpheli ilaçla oluştuğunu tam olarak kanıtlamak elimizdeki imkanlarla zordur.¹ İlaç allerjisi tanısında doktorun bilgi ve tecrübesi eşliğinde alınan ayrıntılı anamnez ve fizik muayene esastır. İlaç allerjisi düşünülen olgularda sırasıyla in vivo deri testleri, laboratuvar yöntemleri ve provokasyon testleri ile tanı doğrulanmaya çalışılır. İlaç allerjileri genellikle IgE aracılı erken tip reaksiyonlarla veya T hücre aracılı geç tip reaksiyonlarla oluşmaktadır. Aynı anda birden fazla ilacın kullanılması, ilaca bağlı belirtilerle hastalığa ait bulguların ayırt edilememesi, standardize testlerin bulunmaması tanıda karşılaşılan güçlüklerdir.

İlaç allerjisi tanısında kullanılan testler: İn vivo testler ve in vitro testler olmak üzere 2 kısımda incelenir. İn vivo testler deri testleri ve provokasyon testleridir. İn vitro testler spesifik IgE ölçümü, lenfosit proliferasyon analizi ve allerjenle uyarılan mediatör salınım testleridir.

İN VİVO TESTLER

Deri testleri: İlaç allerjilerinin tanısında prick test, intradermal test, patch (yama) testi ve fotopatch test kullanılır. Hastanın anamnezi ve fizik muayene bulgularından yararlanılarak tanıda kullanılacak deri testi belirlenir. Prick test ve intradermal test IgE aracılı erken tipte ilaç allerji reaksiyonlarının tanısında, yama testi gecikmiş tip reaksiyonların tanısında kullanılır. İlaç kullanımı ardından ürtiker/anjiyoödem, rinit, konjonktivit, bronkopazm veya hipotansiyon oluştu ise prick test ve intradermal testler kullanılmalıdır.

Prick test ve intradermal test: Prick testte iğne ucu ile deri delinerek deri üstündeki allerjen solüsyonunun deri altına geçmesi sağlanır. Prick negatif ise intradermal test uygulanır. İntradermal testte, 0.02-0.05 mL volümündeki allerjen deri altına enjekte edilerek 3 mm çapında kabarıklık oluşturulur. Prick test ve intradermal test 15-20 dk. sonra okunur. İlaç, 3 mm ve üzerinde kızarıklık ve kabarıklık oluşturdu ise prick test pozitif kabul edilir. İntradermal testte 20 dk. sonra oluşan kabarıklığın çapı kızarıklıkla birlikte 3 mm ve üzerinde arttı ise pozitif kabul edilir. Gecikmiş ve geç faz reaksiyon-

lar için intradermal test 24-72 saat sonra tekrar değerlendirilmelidir. Değerlendirmede eritem çapı ve morfolojik değerlendirme yapılmalıdır, eritemli şişlik, sadece eritem, papül ve/veya veziküllü ekzema lezyonu şeklinde değerlendirmeler yapılmalıdır. Test alanınının 20. dk. ve 24-72. saatte fotoğrafları çekilmelidir, mümkünse histolojik inceleme yapılmalıdır.

İntradermal test prick testten daha duyarlıdır ancak irritasyon etkisi ile yalancı pozitiflik meydana gelebilir, ayrıca anafilaksi oluşturucu etkisi fazladır.²

Prick ve intradermal testten 1 hafta önce antihistaminikler ve 48 saat önce β blokerler kesilmelidir, hastada herhangi bir enfeksiyon, ateş ve inflamatuvar hastalık bulunmamalıdır (Tablo 1).³

Deri testleri ile oluşan sistemik belirtiler genellikle ilk reaksiyonları taklit eder, ancak daha hafiftirler. Tipik olarak kısa süre içerisinde kaşıntı, izole ürtikeryal döküntüler, anjiyoödem, nefes darlığı ve baş dönmesi oluşur. Bu semptomların bir kısmı taşikardi, karın ağrısı, nefes darlığı ve nihayet hipotansiyonla sonlanır.

Deri testi sensitivitesi ve spesifitesini belirlemede altın standart bir teste ihtiyacımız vardır. Provokasyon testleri altın standart olarak kullanılamaz, uygulanması etik açıdan uygun değildir. Standardize test solüsyonları sadece penisilinler için mevcuttur. Penisilin allerjilerinde majör determinant olarak adlandırılan penisilol polilizin (PPL) [benzilpenisilin (penisilin G), poli-L-lizin ile konjuge hali] ve minör determinant karışım (MDM)- [benzil penisilin + benzilpenisiloid asit], (Allergopen, Allergopharma, Steinbeck, Almanya) özel olarak deri

TABLO 1: Deri testleri öncesi kesilmesi gereken ilaçlar.³

İlaçlar	Uygulama	Erken ADR	Geç ADR	Süre
Antihistaminikler	PO, İV	+	-	5 gün
β blokerler	PO, İV	+	-	5 gün
Glukokortikoidler				
Uzun süreli	PO, İV	\pm	+	3 hafta
Kısa süreli >50 mg pred*	PO, İV	\pm	+	1 hafta
Kısa süreli <50 mg pred*	PO, İV	+	-	3 gün
Topikal kortikosteroidler	Topikal**	\pm	+	>2 hafta

*Prednisolon eşdeğeri, **Sadece testin uygulanma yeri için geçerli.

testi için üretilmiştir. Ancak üretim son yıllarda durdurulmuştur, aynı bileşimler Diater Laboratuvarları'ndan (Madrid, İspanya) sağlanabilir.

Penisilinlerle erken tip aşırı duyarlılık tanımlayanlarda deri testlerinin sensitivitesi PPL için %22, MDM için %21, amoksisilin için %43 ve ampisilin için %33 saptanmıştır, tümü bir arada kullanıldığında ise %70'e çıkmaktadır. Spesifte her bir haptten için %97-99 arasında değişmektedir.⁴

Avrupa Allerji ve Klinik İmmünoloji Akademisi (EAACI), β laktam allerjilerinde PPL ve MDM kullanımına ek olarak sırasıyla penisilin G, amoksisilin, ampisilin ve en sonunda şüpheli ilaçla test yapmayı önermektedir. Pratik bir diğer yöntem tüm preparatlarla aynı anda deri testi yapmak, negatif bulunursa şüpheli ilaçla provokasyon uygulamaktır. Bu aşamalardan sonra β laktam antibiyotiklere çarpaz reaktif olanlar veya sadece tek moleküle spesifik duyarlı olanlar ayrılırlar.

İlaç allerjilerinin tanısında öncelikle prick ardından, intradermal test yapılmalıdır. β laktam antibiyotiklerin deri testi konsantrasyonları belirlenmiştir (Tablo 2).

Test konsantrasyonu bilinmiyorsa intravenöz ilaç preparatının 1/100'ü ile başlanır, X10 dozlarla 1/1'e kadar devam edilir. Prick test negatif ise aynı şekilde doz artırımları ile intradermal test uygulanır. Aşırı duyarlı kişilerde prick teste 1/1000 kon-

santrasyonunda başlanmalıdır. Lokal anestetik allerjilerinde adrenalinsiz preparatlarla önce doğru- dan prick ardından 1/100, 1/10 ve 1/1 intradermal test yapılır.⁵

Allerjik hastada reaksiyon ile test arasında geçen süre uzadıkça testin pozitif çıkma olasılığı azalır. β laktam allerjisi olan hastalarla yan zincir duyarlılığı olanlar arasında pozitifliğin devamı açısından fark bulunmaktadır. β laktam allerjik hastaların %40'ında 5 yıl sonra deri testi negatifleşirken, amoksisilin allerjik olanların %100'ü negatifleşir. Ancak sefalosporinler için duyarlılıkta azalmanın zamanlamasını gösteren bu şekilde bir çalışma bulunmamaktadır. Bu hastalarda tekrar duyarlanma olabilir mi? Hastaların yaklaşık %1-16'ı β laktam antibiyotik tekrar kullanımı ile duyarlı hale gelirler. Bir hastada penisilin allerji öyküsü pozitif ancak deri testleri ve in vitro testler negatifse, provokasyon testi negatif bile olsa hastaya 2-4 hafta sonra testler tekrarlanmalıdır.⁶

Yama (Patch) testi: İlaça bağlı geç tip allerjilerin tanısında kullanılabilir. İlaç kuru toz veya solüsyon halinde kuyucuklar içerisinde hastanın sırtına 48 saat tatbik edilir, 48. saatte çıkarılır. Test yeri 48. ve 72. saatlerde değerlendirilir. Fotopatch testte test materyali kaldırıldıktan sonra 5-10 J/cm² UV'e maruz bırakılır. Yama testi üst sırt derisine uygulanır, bu bölgede deri lezyonları olmamalı, topikal kremler sürülmemiş olmalı ve alkolle önceden temizlenmemiş olmalıdır. Test yapılmadan önce anamnezle hastanın erken tipte aşırı duyarlılık reaksiyonu geçirmediği belirlenmelidir.²

Patch testi önceden yoğun UV etkisinde kalan hastalara yapılmamalıdır (solariuma girenler ve deniz kıyısında tatil yapanlar gibi). Test alanından farklı bölgelere yüksek dozda topikal glukokortikoid tedavi uygulanan hastalar düşük doz sistemik steroid tedavi alan hastalar gibi değerlendirilmelidir.

Deri testi hangi hastalarda risklidir? İlaç kullanımından anafilaksi gibi hayatı tehdit edici reaksiyon geçiren hastalar, Steven Johnson Sendromu, şiddetli büllöz ekzantem, vaskülit, toksik epidermal nekroliz gibi deri reaksiyonu ve hipersensitivite sendromu geliştiren hastalarda deri

TABLO 2: Prick test ve intradermal test için önerilen maksimal ilaç konsantrasyonları.

Haptten	Doz	Ünite
BPO (PPL)	5 x 10 ⁻⁵	mmol/L
MDM	2 x 10 ⁻²	mmol/L
Penisilin G	10.000	Ü/mL
Amoksisilin	20-25	mg/mL
Ampisilin	20-25	mg/mL
Sefalosporin	1-2	mg/mL
Aztreonam	3	mg/mL
İmipenem	1	mg/mL
D. tubokurarin	300	µgr/mL
Pankuronyum	200	µgr/mL
Süksinilkolin	200	µgr/mL
Thiopental Na	2.5	mg/mL

Bu dilüsyonlarla doğrudan prick yapılır, negatif bulunursa sırasıyla 1/100, 1/10, 1/1 konsantrasyonunda intradermal (0.02 mL) test yapılır. BPO: Benzil penisilol, MDM: Minör determinant mixture.

testi ile de aynı reaksiyonlar gelişebileceğinden test yapılması risklidir. Bu hastalarda deri testinin gerekliliği ayrıntılı olarak sorgulanmalıdır.

Patch test, intradermal test ve prick test için ilacın parenteral (tercihen intravenöz kullanılan formu) %0.9 NaCl içerisinde dilüe edilir. Bu preparatlarla deri testinin nasıl yapıldığına dair farmakolojik yöntemler bilinmemektedir. İnteradermal solüsyonların steril olması gereklidir. Suda erimeyen depo preparatlar öncelikle dimetil sülfoksit (DMSO) içerisinde hazırlanmalı ve ardından %0.9 NaCl ile dilüe edilmelidirler. DMSO ile sulandırılmış preparatlarda negatif kontrol olarak da mutlaka DMSO kullanılmalıdır.

Sadece tablet halinde olan, çözünür olmayan ilaçlar öncelikle havanda dövülmeli ardından %0.9 NaCl veya petrolatum içerisinde karıştırılmalıdır. Genel olarak petrolatum içinde %5 ve izotonik içerisinde ise 50 mg/mL'lik karışım hazırlanır. Test konsantrasyon dozları mg/mL olarak verilmeli ve her bir ilaç için optimal test konsantrasyonu saptanmalıdır.²

Sağlıklı kontrollerde deri reaksiyonuna yol açmayan test konsantrasyonunun ilaç allerjisi öyküsü olan bir kişide reaksiyona neden olması ilaç allerjisi teşhisini koydurur. Test konsantrasyonu bilinmeyen ilaçlar için optimal konsantrasyon ilacın, bu ilaçla hiç karşılaşmamış veya karşılaşsa bile allerjik reaksiyon oluşturmamış kişilerde herhangi bir deri reaksiyonu oluşturmayan (irritasyon dahil) en yüksek dozudur. Bu dozun ilacın terapötik dozlarda alındığında oluşan serum ve deri konsantrasyonu ile korele olup olmadığı bilinmemektedir.

Deri testlerinin negatif prediktif değeri genellikle düşüktür. Bu da ilaçların fizyolojik metabolitlerinin aktif ilaçtan daha fazla reaksiyona neden olması dolayısı ile oluşmaktadır. Birçok ilaç haptan özelliğindedir ve serumda bir proteinle birleşerek allerjen haline gelir. Bu nedenle deri testinin negatif bulunması o ilaca karşı allerji olduğunu ekarte ettirmez. Yarar ve zararı düşünülerek daha tehlikeli olan provokasyon testlerine geçilebilir. Ancak uygun teknik ve materyal kullanıldığı takdirde pozitif ilaç testleri her zaman ilaç allerjisi tanısını koydurur. Deri testinin pozitif prediktif değeri da-

ha yüksektir. Diğer allerjenlerle yapılan deri testlerinde olduğu gibi sonuçlar anamnezle ve mümkünse in vitro testlerle birlikte değerlendirilmelidir. Klinik ve deri testi allerji yönünde ise hasta söz konusu ilacı içeren tüm ilaçları kullanmaması yönünde uyarılmalıdır. Ancak ilaç allerjileri ile uğraşan merkezlerde yanı sıra provokasyon testleri de yapılır ve deri testinin yanlış pozitif ve negatif değerlendirmeleri önlenir. Alternatif ilaçla da provokasyon testi yapılır ya da multipl ilaç intoleransından şüpheleniliyorsa kullanılmak istenen güvenilir olduğu düşünülen bir ilaçla da provokasyon testi yapılır.²

Provokasyon testleri: Uygulamasındaki kısıtlamalara rağmen allerjik hastalıkların tanısında provokasyon testleri altın standart kabul edilmektedir.

Provokasyon test endikasyonları şu şekilde sıralanabilir.⁷

1. Semptomları allerji ile uyumlu olmayan hastalarda ilaç allerjisini dışlamak için,
2. Hastanın duyarlı olduğu ilaçtan yapıcı/farmakolojik olarak farklı ilacı güvenle kullanabileceğini kanıtlamak için.
3. Hastanın duyarlı olduğu ilaca yapıcı benzeyen başka bir ilacı kullanması gerektiğinde her iki ilaç arasında çapraz reaksiyon olmadığını ispatlamak için.
4. İlaç allerjisi öyküsü olan bir kişide deri testleri ve in vitro testler negatif iken allerji tanısını koyabilmek için.

İlaç provokasyon testi kontrendikasyonları

1. Hamilelik,
2. Komorbid hastalıklar, akut enfeksiyonlar, astım, kardiyak, renal ve hepatik hastalıklar,
3. İlaç kullanımı sonrasında toksik epidermal nekroliz, Steven Johnson Sendromu, eritema multiforme majör ve sistemik hipersensitivite reaksiyonu geliştiren hastalar.

Provokasyon testinde ilaç giderek artan dozlarda verilir. Klinik bulgular ilacın alınmasını takiben 1 saat içerisinde oluştuysa klinik semptomların şiddetine göre tedavi edici dozun 1/10000-10'u ile tes-

te başlanır. Test allerji semptomları oluşunca veya maksimum doz verildikten sonra sonlandırılır. Dozlar arasında en az 30 dk. ara olmalıdır, gecikmiş tipte reaksiyonlarda daha uzun süre de olabilir. İlacın kullanımından 1 saat sonra klinik bulgular oluştuysa başlangıç dozunun tedavi dozunun 1/100'ünden daha dilüe olması gereksizdir. İlacın türüne ve oluşan reaksiyona göre değişmekle birlikte provokasyon testleri saatler, günler ve nadiren haftalar sürebilir. Eğer allerjik ilaçtan farklı güvenilir bir alternatif bulunmak isteniyorsa ilaç tek dozda verilebilir.

İlaç provokasyon testinin pozitif kabul edilebilmesi için testte oluşan semptomların öyküde bahsedilen semptomlarla benzer olması gereklidir. Test pozitifliği oluşan deri bulgularının fotoğraflanması, nasal bulguların rinomanometri, solunum bulgularının spirometri/PEF metre ve kardiyovasküler bulguların objektif olarak saptanması ile kanıtlanabilir.

İlaç allerjisi olan kişiler allerjik oldukları ilaçları gösteren bir künnye veya bilezik takmalıdırlar. Hastaların eline "**Allerji Pasaportu**" verilmelidir. Pasaport içeriğinde,

- Allerjiye neden olan ilacın jenerik ve firma adı,
- İlaçla oluşan semptomların zamanı, tipi ve şiddeti,
- İlaç allerjisi tanısında kullanılan yöntem (öykü, deri testi, LTT, spesifik IgE, provokasyon testi...)
- Provokasyon testi ile saptanan güvenli alternatif belirtilmelidir.⁷

Standardize provokasyon protokolleri allerjik kontakt dermatit, fix ilaç erüpsiyonları, aminopenisilin ve sefalosporinlerden sonra meydana gelen makülopapüler döküntüler, penisilinlerle oluşan erken ve geç tipte ilaç allerjileri, non-steroid anti-inflamatuar ilaç (NSAİİ) ile oluşan ürtiker ve anjiyoödem ve lokal anestezikler için bulunmaktadır.⁸⁻¹⁵

Analjezik allerjilerinde provokasyon testleri: Analjeziklerin büyük bir kısmı siklooksijenaz (COX) enzimini inhibe ederek ağrı ve inflamasyonda görevli bazı mediatörlerin sentezini engellerler.

COX arasıdonik asit metabolizmasında görevlidir. İki izoformu vardır. COX-1 ve COX-2. Analjeziklerin COX-1 ve COX-2'ye afiniteleri farklıdır.

Analjezik duyarlılığına bağlı oluşan solunum, deri semptomları ile anafaksi ve anafaktoid reaksiyonlarda tanı koydurucu deri testi veya in vitro test yoktur. Allerjist çoğu kez anamneze göre hastanın allerjik olduğu ilacı saptamaya çalışır. Ancak kesin tanı için söz konusu analjezikle provokasyon testi yapılabilir. Öyküde oluşan semptomlar dikkatle sorgulanmalıdır. Hasta ilaç kullanımını takiben rinit, astım bulguları tanımlıyorsa, bu semptomlar COX-1 inhibisyonuna bağlı olduğu için asetilsalisilik asit (ASA) ile uyarı testleri yapılabilir. ASA verilmiş yoluna göre 4 farklı uyarı testi geliştirilmiştir.¹⁶

1. Ağızdan verilmesi,
2. İnhalasyon yoluyla bronşlara püskürtülmesi,
3. Nazal mukozaya püskürtülmesi,
4. İntravenöz yolla verilmesi.

Ağızdan ASA uyarı testi: Hastaya 1. gün plasebo, 2. ve 3. gün ise artan dozlarda ASA verilir. İlk gün plasebo verilmeden önce bazal solunum testi yapılır. Plasebo sonrası aralıklı solunum testi tekrarlanır. Amaç hastanın bazal 1. saniyedeki zorlu ekspiratuar volüm (FEV₁) değerinin ve FEV₁'deki gün içi değişimlerin saptanmasıdır. Plasebonun uygulandığı gün FEV₁ değerinde bir önceki güne göre %15'ten fazla azalma saptanırsa havayollarının stabil olmadığı düşünülür ve teste devam edilmez. İkinci gün hastanın duyarlılığına göre değişmekle birlikte 15 mg veya 30 mg dozunda teste başlanır. Üçüncü gün 650 mg ASA verilmesi ile test sonlandırılır. FEV₁ ölçümü plasebo ve ASA alınan gün saat başı yapılır. Test sırasında burun, göz, larenks/solunum sisteminde oluşabilecek semptomlara göre hasta değerlendirilir. Ayrıca FEV₁'deki düşmeler gözlenir. Tablo 3'te ağızdan ASA uyarı protokolu verilmiştir. Bu protokol Stevenson ve ark.nın ortaya attığı birçok merkezce uygulanan bir protokoldür.¹⁷ Bazı merkezlerde ise daha farklı protokoller uygulanmaktadır. Farklı protokollerde hastanın duyarlılığına bağlı olarak değişmekle birlikte teste 3 veya 30 mg dozunda başlanabilir, doz artımları ve dozlar arasındaki süre değiştirilebilir.¹⁷

TABLO 3: Ağızdan 3 günlük ASA uyarı testi.

Saat	1. Gün	2. Gün	3. Gün
08.00	Plasebo	15-30 mg	150 mg
11.00	Plasebo	45-60 mg	325 mg
14.00	Plasebo	100 mg	650 mg

Bronşiyal lizin-asetilsalisilik asit (L-ASA) testi: Kristalize L-ASA %0.9 NaCl içerisinde çözdürülür ve doz kontrollü jet nebulizerle inhalasyon yaptırılır. Hastanın bazal değerlerinin görülmesi için öncelikle suda çözünmüş lizin solüsyonu bronşlara uygulanır, ardından 30 dk.da bir giderek artan dozlarda ASA lizin inhale ettirilir. Her bir dozun 10., 20. ve 30. dk.larında FEV₁ ölçülür. FEV₁'de %20'den fazla bir azalma oluşmuşsa veya ekstrasbronşiyal semptomlar meydana gelmişse teste devam edilmez. Hastada herhangi bir bulgu oluşmazsa toplam 182 mg'lık doza ulaşılarak test sonlandırılır.¹⁷

ASA'nın nazal yolla verilmesi: ASA duyarlılığını saptamada tarama testi olarak kullanılır. Uygulama sonrası nadiren sistemik semptomlar oluşur ve oluşan semptomları kontrol altına almak ağız yoluyla uygulamaya göre daha kolaydır. Astımı kontrol altında olmayan ve FEV₁ değerleri %70'in altında olan hastalar ile ASA ile sadece nazal semptomlar geliştiren hastalarda nazal uyarı yapılır.¹⁶

Duyarlılığı ve özgüllüğü en yüksek olan ağızdan ASA uyarı testidir. Tanıda altın standart kabul edilmektedir. Nazal yolun duyarlılığı ise %80 ve üzerindedir.

Tablo 4'te genel olarak provokasyon testi öncesi bırakılması gereken ilaçlar ve bırakılma süreleri listelenmiştir.

İN VİTRO TESTLER

Spesifik IgE tayini: Spesifik IgE, risk taşımayan, kısa sürede yapılabilen ve deri hastalığı olanlarda da uygulanabilen bir testdir. Provokasyon testlerine göre daha ucuzdurlar. Ancak sensitiviteyi düşüktür ve deri testine göre daha pahalı yöntemlerdir. Kullanılan yöntemler immünoassaylerdir. Enzim linked immünoassay analiz (ELISA); "radioallergo-sorbent test (RAST)"; floresans enzim immünoas-

say (FEIA)'dir. Prensipte haptent-taşıyıcı-antikor kompleksinin saptanması ilkesine dayanır. RIA'da izotopik reagentlerin kullanımı gerektiği için özel laboratuvar ve ekipmanlar şarttır. En sık FEIA kullanılmaktadır, Pharmacia CAP sistemi bunlardan biridir. Test edilen ilaç immün CAP ile kovalent olarak bağlanır ve hasta serumundaki ilaca spesifik IgE ile reaksiyona girer. 0.35 kUA/L cutt-off değeridir. Bu değer altı negatiftir, 0.35-100 kUA/L arasındaki değerler pozitif kabul edilir.¹⁸

Sensitivite ve spesifite: Amoksisilin (AXO), PPL-majör determinant veya MDM ile deri testi pozitif olan 19 hastada benzil penisilolil (BPO) ve AXO spesifik IgE'nin sensitivitesi %74 bulunmuştur. Sadece AXO yan zincir allerjisi olan yani AXO ile deri testi pozitif ancak PPL ve MDM ile negatif olan 29 hastada sensitivite %41 saptanmıştır. Bir başka çalışmada 26 hastanın %42'inde AXO ile deri testi negatif saptanmış ancak provokasyon testi pozitif bulunmuştur, bu hastalarda BPO ve AXO ile spesifik IgE pozitif bulunmuştur. Bu son grup provokasyon riskine girmeksizin spesifik IgE ölçümü ile saptanabilecek grubu oluşturmaktaydı. AXO ve/veya BPO ile pozitif saptanan 48 hastada spesifik IgE ölçümünün sensitivitesi %54 ve spesifitesi %95-100 saptanmıştır. Bildirilen farklı spesifik IgE oranları kısmen reaksiyonun oluşu ile ilaca son maruz kalma arasındaki süreye bağlıdır.⁵

Deri testi ve spesifik IgE ölçümünün karşılaştırılması doğru değildir. Çünkü deri testinde minör

TABLO 4: Provokasyon testi sırasında kullanılmaması gereken ilaçlar.⁶

İlaç	Uygulama	Erken ADR	Geç ADR	Süre
Antihistamin	PO, İV	+	-	5 gün
Antidepresan	PO, İV	+	-	5 gün
β bloker	PO, Topikal	+	+	1 gün
Glukokortikoidler	Topikal	-	?**	?**
Uzun süreli	PO, İV	±	+	3 hafta
Kısa süreli >50 mg pred*	PO, İV	±	+	1 hafta
Kısa süreli <50 mg pred*	PO, İV	+	-	3 gün
ACE inhibitörleri	PO	±	+	>2 hafta

*: Etkisi tam bilinmiyor, **: Etki süresi tam bilinmiyor.

determinant yerine kullanılabilir spesifik IgE ölçümü yoktur. PPL (BPO-PPL) ile deri testi pozitif olanlarda BPO spesifik IgE'nin pozitif olma olasılığı vardır. MDM deri testi pozitif ancak PPL negatif olan hastalarda BPO spesifik IgE pozitif bulunabilir. Selektif AXO duyarlılarda deri testi pozitif ise spesifik IgE'lerin pozitif bulunma oranı da yüksektir.⁵

LTT (Lenfosit proliferasyon testi, lenfosit stimülasyon testi): T lenfositlerin patogenezi önemli olduğu ilaç allerjilerinin tanısında kullanılmaktadır (Tablo 5). İlaç allerjilerinde peptid veya ilaç molekülü T hücrelerine sunulur. Allerjik kişilerde aktifleşen T lenfositlerinde CD69, CD25 ve HLA-DR ekspresyonu artar.¹⁹ T hücreleri proliferasyona başlar, hücre içi IL-5 üretimi artar.²⁰ İn vitro koşullarda ilaçla bir araya gelen ve proliferasyona başlayan T hücrelerinin DNA'sı ³H-timidini hücre içerisine alırlar. LTT testinde tercihen heparinli (liquemine 5000 U 0.1/10 mL kan) kan alınır, hemen çalışılmayacaksa oda ısısında bekletilir, ficoll ile mononükleer hücreler (MNH) ayrılır. MNH'de makrofajların oranı çok yüksek olmamalıdır (>%25), makrofajların ürettiği PGE2 T lenfosit proliferasyonunu baskılar. Elde

edilen MNH 2 x 10⁶/100 µL oranında düz tabanlı çukurlara konulur. İlaçlar saf halde kullanılır, doz-yanıt eğrisini oluşturmak için genellikle 3 farklı doz (1, 10 ve 100 µg'lık) kullanılır. Hücreler %5 CO₂ inkübatörlerde 5 gün bırakılır. Son 10-14 saatinde ³H-timidin ilave edilir. LTT her hasta için kontrol (ilacın bulunmadığı test ortamı), örnek (ilacın bulunduğu) ve pozitif kontrol (tetanus toksoidi 5 µgr/mL) olarak düzenlenir. Hücrelerin timidin alımı ölçülür. Dakikada hücre içine alınan miktar "count per minute (cpm)" saptanır. Sonuçlar stimülasyon indeks SI olarak verilir. SI ilacın bulunduğu çukurdaki cpm/ilaçsız çukurdaki cpm oranıdır. SI>2 ise test pozitif kabul edilir, β laktam antibiyotiklerde ise SI>3 olmalıdır. İmmünespresif ilaçlar ve özellikle de kortikosteroidler T hücre proliferatif yanıtını baskırlar. Kortikosteroidler lenfopeni oluştururlar ve hücre içi sitokin üretimini baskırlar. Bu nedenle 0.2 mg/kg'dan fazla prednison kullananlarda test yapılmaz. LTT'de duyarlı lenfositler dondurularak aralıklı kullanılmaları mümkün olmuştur. Bu testte ilaca duyarlı hafıza T hücreleri proliferasyona neden olmaktadır, bu nedenle aynı hastada 10-20 yıl sonra bile test pozitif çıkabilir, ancak bazı kişiler 4-5 yıl içerisinde duyarlılıklarını kaybedebilirler. LTT akut allerjik reaksiyondan 4-8 hafta sonra yapılmalıdır.²¹

LTT diğer in vitro testlerde olduğu gibi sadece duyarlılaşmayı gösterir ancak klinik semptomların söz konusu ilaca bağlı olduğunu kanıtlamaz. Patch test ve LTT bir arada değerlendirilmesi T lenfositlerin önemli rol oynadığı ilaç allerjileri tanısında sensitiviteyi arttırmaktadır. β laktamlara bağlı gecikmiş tip allerjik reaksiyonlarda LTT, deri testlerinden (intradermal testin geç okunması) daha duyarlıdır. Erken tip allerjik reaksiyonlarda prick test biraz daha duyarlıdır.

Tablo 5'te ilaç allerjilerine bağlı oluşan hangi klinik durumlarda lenfosit transformasyon testini kullanabileceğimiz gösterilmektedir.

Tablo 6'da gösterilen ilaçlar için LTT'nin kullanılması uygundur. LTT sensitivitesi genel olarak %60-70 arasındadır (β laktam çalışmaları esas alındığında). Pozitif sonuçlar ilaç allerjisi tanısını koydurur, ancak negatif sonuçlar dışlamaz. Spesifitesi genel anlamda %85 civarındadır, ancak karbama-

TABLO 5: LTT'nin pozitif bulunduğu hastalıklar.²¹

Sıklıkla pozitif (>%50)
Jeneralize makülopapüler ekzantem
Büllöz ekzantem
Akut jeneralize ekzantematöz püstülozis
Eozinofil ve sistemik semptomlarla birlikte ilaç hipersensitivite sendromu (DRESS)
Anafilaksi (Şiddetli semptomlar)
Pozitif olabilen (%10-50)
Hepatit
Nefrit
Ürtiker, anjiyoödem
İnterstisyel akciğer hastalığı
Pankreatit
Nadiren pozitif (<%10)
Toksik epidermal nekroliz
Vaskülit
Maküler ekzantem
Gulien Barr
İlaç diskrazileri ITP, hemolitik anemi
Fiks ilaç erüpsiyonları

ITP: İmmün trombositopenik purpura,

DRESS: Drug Rash with Eosinophilia and Systemic Symptoms.

TABLO 6: Lenfosit transformasyon testi için uygun olan ilaçlar.²¹

Antibiyotikler,
Aniepileptikler,
ACE inhibitörleri,
Antitüberküloz ilaçlar,
Diüretikler,
Non-streoid antiinflamatuvar ilaçlar (COX-1 ve COX-2 inhibitörleri)
Pirazolonlar,
Lokal anestezipler,
HMG (Hidroksi metil glutaril) CoA redüktaz inhibitörleri,
Morfin türevleri,
Radyokontrast madde,
Kas gevşeticileri,
Vitaminler

zepin, lamotrigin ve β laktam antibiyotiklerde biraz daha fazladır.²²⁻²⁴ Sensitivite genel olarak düşük, spesifite yüksek olduğu için negatif sonuç ilaç alerjisi olasılığını asla dışlamaz.

Aspirin duyarlı hastaları belirleme testi “Aspirin Sensitive Patients Identification Test (ASPI-Test)”: Aspirin duyarlı hastaların periferik kanlarından elde edilen lökositlerin 2-200 μ M aspirinle inkübasyonu sonucunda ortama salınan “15 hydroxyeicosateraenoic acid (15-HETE)”in kantitatif ölçüldüğü kitler (Assay Designs, ABD) kullanılır. Testin spesifitesi %82, sensitivitesi %83 olarak saptanmıştır.²⁵

Allerjenle indüklenen mediatör salınım testleri: Allerjenin uygun dozlarda yüzey spesifik IgE antikorlarını çarpaz bağlayarak mast hücre ve bazofil aktivasyonuna neden olması ve dış ortama boşalan veya hücre yüzeyinde eksprese olmaya başlayan mediatörlerin ölçülmesi esasına dayanır. Tam kandan hazırlanan örneklerin 24 saat içerisinde çalışılması, zaman alıcı ve pahalı prosedürler olması, en önemlisi standardize metotların olmaması nedeni ile rutine girmemiş testlerdir. Basitçe bazofilin allerjenle inkübasyonu sonrası hücreler santrifüj edilir, üstte kalan sıvı kısımda histamin ve LTC4 analizi yapılır.

Cys-LT salınım testi: Periferik kandan izole edilen lökositlerde allerjen stimülasyonu sonrası ortaya çıkan Cys-LT düzeyinin ölçümü esasına da-

yanmaktadır. CAST adıyla ticari olarak da standardize edilmiştir. Avrupa’da Buhlmann laboratuvarları kuzey Amerika’da ise ‘American Laboratory Products Cooperation’ tarafından dağıtımına sunulmaktadır. Sensitivitesi aspirin ve β laktam allerjilerinde düşük [sırasıyla %21 ve 43] ve bazı gıda allerjilerinde %85 kadar yüksek saptanabilir.^{26,27} Spesifitesi allerjene göre değişmekle birlikte %67-100 arasındadır.²⁸ Bu bilgilerden hareketle β laktam ve aspirin duyarlılığının tanısında yararlı olmadığı söylenebilir. Diğer allerjen duyarlılıklarında sonuçlar ümit vericidir, ancak tanıda kullanılır hale gelmesi için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

Histamin salınım testi: Son yıllarda sensitivite ve spesifitenin saptanabilmesi için öykü ve deri testi ile karşılaştırmalı çalışmalar yapılmıştır. Tanı koydurucu sensitivitesi allerjene göre değişmektedir. β laktam allerjilerinde-arı allerjilerinde %50 ve ev tozu, kedi ve köpek tüyü allerjilerinde %94 civarındadır. Tanı koydurucu spesifitesi arı allerjilerinde %43 ve inhaler allerjenlerde %90 arasında değişmektedir.²⁹⁻³² Bu verilerden hareketle histamin salınım testinin duyarlı olan ve olmayan hastaların ayırımında yararlı olduğu ancak deri testine göre tanı değerinin belirgin düşük olduğu söylenebilir.

Flow sitometri: Akım (flow sitometri) hücre yüzeyinde ve içerisindeki antijenik yapıların floresan işaretli probalar kullanılarak görünür hale getirildiği ve aynı zamanda kantitatif olarak belirlendiği bir yöntemdir.³³

1990’lı yılların başlarında allerjen uyarısı ile aktif hale gelen bazofil hücre membranında CD63 adı verilen yüzey molekülünün eksprese olduğu saptanmıştır. CD63 ekspresyonu doğrudan bazofillerin degranülasyonunu gösterir, periferik kan hücrelerinden sadece bazofillerde ve trombositlerde bulunur (dokuda mast hücreleri ve makrofajlarda). Mast hücreleri ve bazofiller allerjinin temel hücreleridir. Yapı ve fonksiyon olarak benzerdirler. Allerjik hastalıkların teşhisinde kullanılan prick/intradermal testte deri altındaki mast hücrelerinde allerjen uyarısı ile degranülasyon oluşturulmaktadır. Mast hücrelerinin periferik kandaki izdüşümleri olan bazofiller, in vitro koşullarda allerjenle aktif hale ge-

lirler. Oluşan aktivasyonun flow sitometrik yöntemle saptanması allerjik hastalıkların tanısında giderek artan oranda kullanılmaktadır.³⁴

Aktif bazofillerde ve mast hücrelerinde allerjen uyarısı sonrası ekspresyonunun arttığı saptanan diğer bir molekül de CD203c'tür. CD203c'nin CD63'e en büyük avantajı periferik kan hücrelerinden sadece bazofillerde bulunmasıdır.³⁵

İnhaler allerjenlere bağlı semptomların (polen ve ev tozu), gıda allerjilerinin, lateks allerjisinin, arı ve ilaç allerjilerinin tanısında flow sitometrik bazofil aktivasyon testi kullanılmıştır. β laktam allerjilerinin tanısında sensitivite yaklaşık %50 olmasına rağmen, spesifite %90'ların üzerindedir. Metamizol ve asetil salisilik asit duyarlılığında sensitivitesi henüz istenen seviyeye ulaşamamıştır, nöromusküler kas gevşeticilere bağlı allerjilerde %55-80 arasında değişen sensitivite saptanmıştır ancak spesifitesi son derece yüksektir (Tablo 7).

İlaç allerjilerinin tanısında öykünün önemi büyüktür, çünkü öykü eşliğinde allerjist hangi tanı

aracını kullanacağını da genellikle belirler. İlaç alımını takiben birkaç saat içerisinde ürtiker, rinit, konjonktivit oluşmuş ise prick ve intradermal test uygulanmalıdır. Ancak ilaç kullanımı ardından genellikle 7 gün sonra oluşan deri lezyonlarında yama testi veya LTT uygulanmalıdır. Öyküsünde nazal polip operasyonu, sinüzit semptomları bulunan, COX-1 enzimini inhibe eden molekül yapıları farklı her türlü ağrı kesici kullanımı sonrası saatler içerisinde burun akıntısı, tıkanıklığı, nefes darlığı tarifleyen hastalarda ise deri testlerinin tanısal bir anlamı yoktur. Bu hastalarda ilaç giderek artan konsantrasyonlarda hastaya verilir ve oluşan semptomlara göre tanı konulur yani uyarı testleri yapılır. İn vitro testler arasında öncelikle bahsedilmesi gereken spesifik IgE ölçümünün tanısal değeri fazla değildir, her ilaç molekülüne karşı geliştirilmiş ticari kitler yoktur ve üretilmeleri de mümkün gözükmemektedir. Allerjenle indüklenen mediatör salınım testleri ise donanımlı laboratuvar, testlerin yorumunda tecrübeli kişilerin gereksinimi nedeni ile henüz rutin uygulamaya girmemiş testlerdir.

TABLO 7: Flow sitometrik bazofil aktivasyon testinin sensitivite ve spesifitesi.³⁶

Allergen	Referans testler	Sensitivite	Spesifite	Hasta sayısı
Ev tozu	A + IgE ve/veya DT	56-78	91-100	20
Dactylis Glomerata	A + IgE ve/veya DT	73-100	100	
Selvi polen	A + IgE + PT	91	100	75
Ev tozu ve lolium perenne	A + IgE + DT	93	98	128
Lateks	A + IgE + DT	93	92	102
Lateks	A + ST	93	100	73
Lateks	A + IgE ve/veya DT	80	97	79
Wasp venom	A	92	80	70
Wasp venom	A	85	83	87
Bee venom	A	91	90	
β laktam	A + DT	50	93	88
β laktam	A \pm DT \pm IgE \pm PT	49	91	110
Metimazol	A \pm PT	42	100	55
Aspirin ve NSAİD	A \pm PT	15-55	74-100	90
Nöromusküler bloker	A	64	93	50
Nöromusküler bloker	A \pm DT	54	100	60
Nöromusküler bloker	A	79	100	24
Havuç-kereviz-fındık	A (OAS)	85-90	80-90	
Elma	A (OAS)	90	100	59
		88*	75*	
Elma (Mal d 1)	A (OAS)	75	64	54
Kereviz (Api g 1)		65	86	
Havuç (Dau c 1)		75	82	
Kronik ürtikerli hastanın serumu	A + OST	20	70	65

A: Anamnez; DT: Deri testi; PT: Provakasyon testi; OST: Ototolog serum testi; OAS: Oral allerji sendromu.

*Oral allerji sendromu olan veya olmayan Birch polen allerjili hastalar arasında karşılaştırma yapılmıştır.

KAYNAKLAR

1. Adkinson NF, Weiss ME. Diagnostic testing for drug hypersensitivity. *Immunol Allergy Clin North Am* 1998;18:731-44.
2. Brockow K, Romano A, Blanca M, Ring J, Pichler W, Demoly P. General considerations for skin test procedures in the diagnosis of drug hypersensitivity. *Allergy*. 2002;57:45-51.
3. Demoly P, Michel FB, Bousquet J. In vivo methods for study of allergy: Skin test methods, techniques and interpretation. In: Middleton E Jr, Reed CE, Ellis EF, Adkinson NF Jr, Yunginger JW, eds. 5th ed. *Allergy Principles and Practice*. New York: Mosby Co; 1998.p.430-9.
4. Torres MJ, Romano A, Mayorga C, Moya MC, Guzman AE, Reche M, et al. Diagnostic evaluation of a large group of patients with immediate allergy to penicillins: the role of skin testing. *Allergy* 2001;56:850-6.
5. Torres MJ, Blanca M, Fernandez J, Romano A, Weck A, Aberer W, et al. Diagnosis of immediate allergic reactions to beta-lactam antibiotics. *Allergy* 2003;58:961-72.
6. Aberer W, Bircher A, Romano A, Blanca M, Campi P, Fernandez J, et al. Drug provocation testing in the diagnosis of drug hypersensitivity reactions: General considerations. *Allergy* 2003;58:854-63.
7. Hannuksela M, Salo H. The repeated open application test (ROAT). *Contact Dermatitis* 1986;14:221-7.
8. Kauppinen K, Stubb S. Fixed eruptions: Causative drugs and challenge tests. *Br J Dermatol* 1985;112:575-8.
9. Blanca M, Fernandez J, Miranda A, Terrados S, Torres MJ, Vega JM, et al. Cross-reactivity between penicillins and cephalosporins: Clinical and immunologic studies. *J Allergy Clin Immunol* 1989;83(2 Pt 1):381-5.
10. Romano A, Di Fonso M, Papa G, Pietrantonio F, Federico F, Fabrizi G, et al. Evaluation of adverse cutaneous reactions to aminopenicillins with emphasis on those manifested by maculopapular rashes. *Allergy* 1995;50:113-8.
11. Torres MJ, Mayorga C, Leyva L, Guzman AE, Cornejo-García JA, et al. Controlled administration of penicillin to patients with a positive history but negative skin and specific serum IgE tests. *Clin Exp Allergy* 2002;32:270-6.
12. Romano A, Quarantino D, Di Fonso M, Papa G, Venuti A, Gasbarrini G. A diagnostic protocol for evaluating nonimmediate reactions to aminopenicillins. *J Allergy Clin Immunol* 1999;103:1186-90.
13. Hein UR, Chantraine-Hess S, Worm M, Zuberbier T, Henz BM. Evaluation of systemic provocation tests in patients with suspected allergic and pseudoallergic drug reactions. *Acta Derm Venereol* 1999;79:139-42.
14. Ring L, Galosi A, Pryzbilla B. "Reverse placebo provocation" in the diagnosis of anaphylactoid reactions to local anesthetics. *J Allergy Clin Immunol* 1986;77:225.
15. Bochenek G, Niz Ankowska E, Szczekliak A. Testing for aspirin hypersensitivity. *Allergy* 2002;57:562-5.
16. Stevenson D, Simon RA. Sensitivity to aspirin and nonsteroidal antiinflammatory drugs. In: Middleton EJ, Ellis EF, Yunginger JW, Reed CE, Adkinson NF, Buse WW, eds. 5th ed. *Allergy: Principles and Practice*. St Louis: Mosby; 1998.p.1225-34.
17. Ahlstedt S, Murray CS. In vitro diagnosis of allergy: How to interpret IgE antibody results in clinical practice. *Prim Care Respir J* 2006;15:228-36.
18. Mauri-Hellweg D, Bettens F, Mauri D, Brander C, Hunziker T, Pichler WJ. Activation of drug-specific CD4+ and CD8+ T cells in individuals allergic to sulfonamides, phenytoin, and carbamazepine. *J Immunol* 1995;155:462-72.
19. Sachs B, Erdmann S, Malte Baron J, Neis M, al Masaoudi T, Merk HF. Determination of interleukin-5 secretion from drug-specific activated ex vivo peripheral blood mononuclear cells as a test system for the in vitro detection of drug sensitization. *Clin Exp Allergy* 2002;32:736-44.
20. Pichler WJ, Tilch J. The lymphocyte transformation test in the diagnosis of drug hypersensitivity. *Allergy* 2004;59:809-20.
21. Luque I, Leyva L, José Torres M, Rosal M, Mayorga C, Segura JM, et al. In vitro T-cell responses to beta-lactam drugs in immediate and nonimmediate allergic reactions. *Allergy* 2001;56:611-8.
22. Naisbitt DJ, Farrell J, Wong G, Depta JP, Dodd CC, Hopkins JE. Characterization of drug-specific T cells in lamotrigine hypersensitivity. *J Allergy Clin Immunol* 2003;111:1393-403.
23. Naisbitt DJ, Britschgi M, Wong G, Farrell J, Depta JP, Chadwick DW, et al. Hypersensitivity reactions to carbamazepine: characterization of the specificity, phenotype, and cytokine profile of drug-specific T cell clones. *Mol Pharmacol* 2003;63:732-41.
24. Kowalski ML, Ptasińska A, Jedrzejczak M, Bienkiewicz B, Cieslak M, Grzegorzczak J, et al. Aspirin-triggered 15-HETE generation in peripheral blood leukocytes is a specific and sensitive Aspirin-Sensitive Patients Identification Test (ASPISTest). *Allergy* 2005;60:1139-45.
25. Lebel B, Messaad D, Kvedariene V, Rongier M, Bousquet J, Demoly P. Cysteinyl-leukotriene release test (CAST) in the diagnosis of immediate drug reactions. *Allergy* 2001;56:688-92.
26. Moneret-Vautrin DA, Sainte-Laudy J, Kanny G, Frémont S. Human basophil activation measured by CD63 expression and LTC4 release in IgE-mediated food allergy. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1999;82:33-40.
27. Weck AL, Sanz ML. Flow cytometric cellular allergen stimulation test (FAST/Flow-CAST). Technical and Clinical Evaluation of a new diagnostic test in allergy and pseudo-allergy. *Allergy Clin Immunol Int: J World Allergy Org* 2002;14:204-15.
28. Demoly P, Lebel B, Messaad D, Sahla H, Rongier M, Daurès JP, et al. Predictive capacity of histamine release for the diagnosis of drug allergy. *Allergy* 1999;54:500-6.
29. Maly FE, Marti-Wyss S, Blumer S, Cuhat-Stark I, Wüthrich B. Mononuclear blood cell sulfidoleukotriene generation in the presence of interleukin-3 and whole blood histamine release in honey bee and yellow jacket venom allergy. *J Investig Allergol Clin Immunol* 1997;7:217-24.
30. Ostergaard PA, Ebbesen F, Nolte H, Skov PS. Basophil histamine release in the diagnosis of house dust mite and dander allergy of asthmatic children. Comparison between prick test, RAST, basophil histamine release and bronchial provocation. *Allergy* 1990;45:231-5.
31. Griese M, Kusenbach G, Reinhardt D. Histamine release test in comparison to standard tests in diagnosis of childhood allergic asthma. *Ann Allergy* 1990;65:46-51.
32. Stewart Carleton C, Nicholson Janet KA. *Immunophenotyping*. 1st ed. USA: Wiley-Liss; 2000.p.442-3.
33. Sainte-Laudy J, Vallon C, Guérin JC. Analysis of membrane expression of the CD63 human basophil activation marker. Applications to allergologic diagnosis. *Allerg Immunol (Paris)* 1994;26:211-4.
34. Boumiza R, Debard AL, Monneret G. The basophil activation test by flow cytometry: Recent developments in clinical studies, standardization and emerging perspectives. *Clin Mol Allergy* 2005;30:3-9.
35. Ebo DG, Sainte-Laudy J, Bridts CH, Mertens CH, Hagendorens MM, Schuerwegh AJ, et al. Flow-assisted allergy diagnosis: current applications and future perspectives. *Allergy* 2006;61:1028-39.