

## GEÇ TIP AŞIRI DUYARLILIĞIN DEĞERLENDİRİLMESİNDE TETANOS TOKSOİDİNİN ÖNEMİ

**Aziz HACİBEKTAŞOĞLU\*\* Ali ŞENGÜL\*\*\* Alaaddin PAHSA\*\*  
Fikri KOCABALKAN\* Pekcan DEMİRÖZ**

*Anahtar Kelimeler: Geç tip aşırı duyarlık, Tetanoz toksoidi*

*Key Words: Delayed type hypersensitivity, Tetanus Toxoid*

### ÖZET

Geç tip aşırı duyarlılık deri testleri, immün yetmezlik şüphesi olan hastalarda hücrel immün fonksiyonların değerlendirilmesi için genel olarak kullanılmaktadırlar. Biz, hücrel immün fonksiyonun değerlendirilmesi için geç tip aşırı duyarlılık deri testi antijeni olarak Tetanoz Toksoidi'nin (TT) kullanılabilirliğini araştırdık. 34 sağlıklı kişide *Candida Albicans* (CA), Streptokinaz/Streptodornase (SK/SD) ve PPD antijenleri TT'inden anlamlı derecede yüksek pozitif cevap verdiler. Hasta grubundan ise diğer antijenlere cevap verenlerin hiçbirinde TT'ine karşı pozitif cevap tesbit edilmedi. Sağlıklı kişilerde pozitif TT deri testi cevaplılığı ile % E-Rozet ve net T-lenfosit sayıları arasında anlamlı bir uygunluk mevcuttu.

Biz hücrel immün fonksiyonun incelenmesinde, TT'ini CA, SK/SD veya PPD veya diğer antijenlerden bazıları ile kombine edilerek kullanılabilir.

### SUMMARY

The Importance of Tetanus Toxoid in the Evaluation of Delayed Type Hypersensitivity

Delayed type hypersensitivity skin testing is commonly used for the evaluation of cell mediated immun function in patients with suspected immunodeficiency. We studied the usefulness of Tetanus Toxoid (TT) as a skin test antigen for delayed type hypersensitivity in assessing cellular immune function. *Candida Albicans* (CA), Streptokinase/Streptodornase (SK/SD) and PPD antigen resulted significantly more positive responses than TT in 34 healthy subjects. There was no positive response to TT in patients groups who were reactive to other antigens. There were good correlations between E-Roset % and absolute T-lymocyte number with positive TT skin test reactivity in healthy subjects.

\* GATA İnf. Hast. ve Kl. Bak. ABD. Prof. Dr.

\*\* GATA İnf. Hast. ve Kl. Bak. ABD. Yrd. Doç. Dr.

\*\*\* GATA İnf. Hast. ve Kl. Bak. ABD. Uz. Öğr. Dr.

We found TT is not as useful as CA, SK/SD or PPD antigens in the evaluation of cellular immune function but it may have some usefulness when used in combination with PPD or some of other antigens.

## GİRİŞ

İmmun sistemin hücresel kolu konjenital ya da akkiz birçok hastalığın gelişiminde büyük öneme sahiptir. Hücresel immünitenin değerlendirilmesinde kullanılan in vitro testlerin yapılışı güç, pahalı, zaman alıcı ve ancak bilimsel çalışmalarda ve uzman personel tarafından yapılabilen testler olduğundan halen kullanılan en kolay ve en kıymetli testler, sıklıkla karşılaşılan antijenlere karşı geç tip aşırı duyarlık deri cevabını oluşturan deri testleri, in vitro olarak çalışılabilen faktörlerin kombinasyonunu temsil etmektedir. Bu testler ortalama 48 saat sonra sonuç verirler. Uygulanmaları ve değerlendirilmeleri kolaydır (2,4,5,6,7,18,21).

Geç tip aşırı duyarlık deri testi için halen en çok kullanılan antijenler: Tüberküloz basili Purifiye Protein Derivasyonu (PPD), Candida Albicans (CA), Streptokoz/Streptodornase (SK/SD) ve Trikofitin antijenleridir. Son yıllarda bunlara Kabakulak (MSTA = Mumps Skin Test Antigen) eklenmiştir (1,2,3,6,7,8,15,18). Yukarıda sayılan antijenlerin herbiri ile ilgili problemler vardır (7,13,14). Bu antijenlerin kullanıldığı çalışmaların sonuçlarında coğrafi bölgelere göre değişiklikler görüldüğü bildirilmiştir (8,21). Birçok çalışmada normal kişilerde SK/SD nin ağır lokal reaksiyonların oluşumuna yol açtığı tespit edilmiştir (21). SK/SD preparatı da fibrinolitik aktivitesinin stabilizasyon yetersizliği nedeni ile üretici firma tarafından piyasadan çekilmiştir (8,19). Normal insanlar arasında CA a karşı pozitif cevap oranında geniş bir varyasyon vardır. Bu varyasyon CA preparasyonları arasındaki varyasyonları yansıtır olabilir (5). MSTA etkinliği de henüz tam tespit edilememiştir. Testin pozitifliği için endurasyonun yanında eritemin de önemi olduğu konusunda tartışmalar vardır (3,5).

Son yıllarda TT nin de geç tip aşırı duyarlık reaksiyonuna yol açtığı tespit edilmiştir. Bu nedenle bu antijenin de bir geç tip aşırı duyarlık deri testi antijeni olarak kullanılıp kullanılmayacağına belirlenmesi amacıyla çalışmalar yapılmıştır. (1,5,10,18,19). Bu çalışmalarda sıvı tetanoz toxoidinin kullanılabilir olduğu, buna karşılık adsorbe aşılardan asla intradermal verilmemesi gerektiği bildirilmiştir (16).

Bu çalışmanın amacı TT nin bir hücresel immünite göstergesi olmak üzere geç tip aşırı duyarlık deri testi antijeni olarak Türkiye'de kullanılabilirliğini araştırmak, varsa yaş, cinsiyet, tetanoz immünizasyonu gibi faktörler ile ilişkisini ortaya koymak ve bu konuda en çok kullanılan diğer antijenlerden hangileri ile uygun kombinasyon oluşturduğunu belirlemektir.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma 19-44 yaşları arasında bulunan (ortalama 27,7) 11'i kadın, 23'ü erkek 34 sağlıklı gönüllü ile Gülhane Askeri Tıp Akademisinin çeşitli kliniklerinde yatmakta

olan ve değişik akut ve kronik hastalıkları olan 4-67 yaşları arasındaki (ort. 35,6) 10'u erkek, 12'si kadın 22 hastada yapılmıştır. Sağlıklı kişilerin sorgulamasında bilinen bir immünolojik yetmezlik, malign bir hastalık, akut ya da kronik bir enfeksiyon, metabolik ve allerjik bir hastalık bulunmamasına dikkat edilmiştir. Test yapılan tüm olgulara daha önce tetanoz aşısı yapıp yapılmadığı sorularak kaydedilmiştir.

Çalışmada kullanılan deri testi antijenleri:

1. TETANOZ TOKSOİDİ (TT): GATA Mikrobiyoloji ABD Başkanlığı laboratuvarlarında üretilen Formol-Toksoid Tetanoz aşısından hazırlanan 10 Lf/ml olacak şekilde toksoid içeren TT deri testi antijeni kullanıldı (7,16,21).

2. CANDİDA ALBİCANS (CA): Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Allerji laboratuvarında hazırlanan "İntradermal Candida Albicans" antijeni (No 517-88) kullanıldı. 1/10'luk dilüsyonu hazırlanmış olan antijen kullanılmadan önce serum fizyolojik ile dilüe edilerek 1/100'lük solüsyon hazırlandı (7,10,11,15,17,18).

3. PPD: Refik Saydam Merkez Hıfzısıhha Enstitüsü tarafından hazırlanan 5 Tü (5 Tüberkülin Ünite)'lik kullanıma hazır PPD kullanıldı (2,5,9,11,19).

4. STREPTOKİNAZ/STREPTODORNAZ (SK/SD): 1 flakonda 100 000 Ü. SK ve 25 000 Ü SD ihtiva eden Varidase (Lederle, Münih Batı Almanya) isimli preparattan hazırlanan 1000/250 Ü/ml SK/SD solüsyonu kullanıldı. (9).

5. SERUM FİZYOLOJİK KONTROL SOLÜSYONU (SF): Bütün antijenlerin dilüsyonlarının yapıldığı GATA Farmakoloji ABD laboratuvarlarında hazırlanan steril, apirojen % 0,9 luk NaCl solüsyonu, kontrol amacıyla kullanıldı.

Deri testlerinin uygulanması:

5 adet antijen ve SF kontrol solüsyonlarından 0,1'er cc önkola birbirine 5 cm'den daha yakın olmamak koşulu ile usulüne uygun olarak İntradermal enjeksiyon şeklinde uygulandı (2). Uygulama yapılırken muhtemel bir anafilaksi reaksiyonuna karşı tedbir olarak Adrenalin, Kortizon, Antihistaminik gibi ilaçlarla Oksijen, Endotrakeal tüp ve pozitif basınçlı solunum cihazı hazır bulunduruldu. Uygulamadan sonra oluşabilecek erken reaksiyonların tesbiti ve kontrolü için tüm olgular uygulamadan sonra 30 dakika gözetim altında bulunduruldu. Deri testlerine karşı reaksiyonlar 48 saat sonra değerlendirildi ve PPD için 10 mm'den, diğer antijenler için 5 mm'den daha büyük çaplı endurasyonlar pozitif (+) olarak değerlendirildi ve endurasyonların en uzun çapları kaydedildi.

Tüm olguların intradermal testler yapıldan hemen önce lökositleri sayıldı, lenfosit yüzdeleri belirlendi ve E-Rozet formasyon testi yapıldı. BK, % lenfosit ve yüzde E-Rozet sayılarından aşağıdaki formül ile Net T-lenfosit sayıları hesaplandı.

$$\text{Net T-Lenfosit sayısı} = \frac{\text{BK} \times \% \text{ lenfosit} \times \% \text{ E-Rozet}}{10\ 000}$$

### Biyostatistiki değerlendirme:

1. Deri testleri sonuçları arasındaki farklılıkların biyoistatistiki anlamlılık yönünden değerlendirilmesi "Bağımlı gruplarda X (Ki-Kare) testi uygulanarak araştırıldı.
2. Tetanoza karşı önceden bağışıkladığını bilenler ile bilmeyenler arasında TT deri testi pozitiflik farklılıklarının biyoistatistiki değerlendirilmesi Fisher'in kesin X testi uygulanarak araştırıldı.

TT deri testi sonuçları pozitif ve negatif gruplar arasındaki yaş ortalamalarının ve Net T-lenfosit değerleri arasındaki biyoistatistiki değerlendirme Mann-Whitney U testi uygulanarak araştırıldı.

### BULGULAR

Çalışmamızda tesbit edilen deri testi bulguları toplu olarak Tablo-1 de gösterilmiştir. Çalışmaya alınan 56 kişiden hiçbirinde SF kontrol testi ile reaksiyon olmadığından tabloya dahil edilmemiştir. Sağlıklı gönüllülerden 31 kişi deri testlerinden bir veya birkaçına pozitif cevap verirken (% 91,17), üç kişi anerjik bulunmuştur (%8,83). Sağlıklı gönüllülerden 26'sar kişi CA ve SK/SD deri testlerine karşı pozitif cevap verirken (%76,47) 8'er kişi anerjik bulunmuştur (% 23,53). Bu antijenlerden sonra ikinci büyük pozitiflik PPD ile elde edilmiştir. PPD ile 25 kişi pozitif cevap oluştururken (% 73,53), 9 kişi anerjik olarak tespit edilmiştir. (% 26,47). SK deri testinde ise olguların 17'si pozitif cevaplı (% 50), 17'si anerjik bulunmuştur (% 50). TT deri testi ile elde edilen pozitif cevaplar ise sağlıklı gönüllülerin ancak 14'ünde (% 41,17) pozitif cevap elde edilmiş, 20'si anerjik bulunmuştur (% 58,83).

Çalışmaya alınan 22 hastanın 16'sı deri testlerinden en az birine karşı pozitif cevap verirken (% 72,72), 6'sı anerjik bulunmuştur. (% 27,27). Bu 22 hasta CA ve PPD ye karşı 12'ser (% 54,55), SK/SD ye karşı 14 (% 63,64), ve SK ya karşı 11 (% 50) pozitif cevap gözlenirken TT deri testi antijenine karşı hiç pozitif cevap gözlenmemiştir (% 0).

**TABLO-1**  
**Deri testi bulguları**

| DERİ TESTLERİ: | CA                   | PPD          | TT           | SK        | SK/SD        | EN AZ BİRİNE |
|----------------|----------------------|--------------|--------------|-----------|--------------|--------------|
| SAĞLIKLILAR    | Müsbet: 26 (% 76.47) | 25 (% 73.53) | 14 (% 41.17) | 17 (% 50) | 26 (% 76.47) | 31 (% 91.17) |
|                | Menfi: 8 (% 23.53)   | 9 (% 26.47)  | 20 (% 58.83) | 17 (% 50) | 8 (% 23.53)  | 3 (% 8.83)   |
| HASTALAR       | Müsbet: 12 (% 54.55) | 12 (% 54.55) | 0 (%0)       | 11 (% 50) | 14 (% 63.64) | 16 (% 72.73) |
|                | Menfi: 10 (% 45.55)  | 10 (% 45.55) | 22 (% 100)   | 11 (% 50) | 8 (% 36.36)  | 6 (% 27.27)  |
| TOPLAM         | Müsbet: 38 (% 67.86) | 37 (% 66.07) | 14 (% 25)    | 28 (% 50) | 40 (% 71.43) | 47 (% 83.93) |
|                | Menfi: 18 (% 32.14)  | 19 (% 33.93) | 42 (% 75)    | 28 (% 50) | 16 (% 28.57) | 9 (% 16.07)  |

Daha önceden tetanoz aşısı yapılanlar ile tetanoz aşısı yapıp yapılmadığını bilmeyenler arasında da TT deri testi sonuçları karşılaştırıldığında; daha önceden aşılanan 23 sağlıklı kişinin 10'unda pozitif cevap elde edilirken (% 43.48), aşılanıp aşılanmadığını bilmeyen 11 sağlıklı kişinin 4'ünde (% 36.36) pozitif cevap elde edilerek aradaki farklılığın istatistiki açıdan anlamlı olmadığı gözlenmiştir. ( $P > \%0,05$ )

TT deri testi sonuçları cinsiyete göre incelendiğinde; 11 sağlıklı kadının 5'i TT ne karşı pozitif cevap verirken, (% 45.45) sağlıklı 23 erkeğin 9'u pozitif cevaplı bulunmuştur (% 39.13). İki cins arasındaki cevap farklılığı istatistiki olarak önemsiz bulundu ( $P > \%0,05$ )

TT deri testi sonuçları pozitif ve negatif olan sağlıklı grupların E-Rozet yüzdeleri ve Net T-lenfosit sayıları karşılaştırıldığında; her iki grupta hem yüzde E-Rozet sayıları bakımından, hem de Net T-lenfosit sayıları bakımından istatistiki olarak anlamlı bir farklılık saptanmıştır. ( $P < \%0,05$ )

Çalışmamızda TT nin diğer deri testi antijenlerinden hangileri ile en iyi kombinasyonu oluşturduğu da araştırıldı. Tablo-II de de görüldüğü gibi sağlıklı gönüllülerde en yüksek pozitif cevap oranı % 82.35 ile TT + PPD kombinasyonunda saptandı.

**Tablo II**  
**TT ve diğer antijenlerin kombinasyonu**

| Antijen | Müsbet Sayısı | Cevap % | Antijen Bataryası | Müsbet Sayısı | Cevap % |
|---------|---------------|---------|-------------------|---------------|---------|
| CA      | 26            | 76.47   | TT + CA           | 27            | 79.41   |
| PPD     | 25            | 73.53   | TT + PPD          | 28            | 82.35   |
| SK/SD   | 26            | 76.47   | TT + SK/SD        | 27            | 79.41   |
| SK      | 17            | 50      | TT + SK           | 22            | 64.7    |

## TARTIŞMA VE SONUÇ

Çalışmaya aldığımız 34 sağlıklı kişinin 31'i (% 91.17), kullandığımız deri testi antijenlerinden en az birine karşı pozitif cevap vermiş ve yalnızca 3'ü (% 8.83) anerjik bulunmuştur. Bu durum daha önce çeşitli araştırmacılar tarafından bulunan sonuçlara uygunluk göstermektedir (14,31). Çalışmaya alınan 22 hastanın ise 16'sı (% 72.73) pozitif cevaplı olmuş, 6 kişi ise (% 27,27) anerjik bulunmuştur. Deri testi antijenlerinin sonuçları tek tek incelendiğinde sağlıklı kişilerde en yüksek pozitiflik CA ve SK/SD'a karşı (% 76,47) tesbit edilmiş; bunları % 73,53 ile PPD ve % 41,17 ile de TT izlemiştir. Hasta grubunda ise TT'e karşı hiç pozitif cevap saptanmamıştır.

Gordon ve arkadaşlarının sağlıklı kişilerde yaptıkları çalışma ile Haverly ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada elde edilen % 49 ve % 40 TT deri testi cevaplılığı bizim bulduğumuz sonuçlarla uygunluk göstermektedir. (7,9)

Callaghan ve arkadaşlarının, MSTA stimülasyonu ile lenfosit aktivasyon indeksi

yüksek bulunan sağlıklı kişilerde yaptıkları çalışmada elde ettikleri % 43 TT deri cevaplılığı da bizim bulduğumuz oran ile uygunluk göstermektedir (3).

Griffin ve arkadaşlarının nütrisyonel destek tedavisi gören kötü beslenmiş kişilerde yaptıkları bir çalışmada da hastaların % 33.8 ini TT ne karşı cevaplı bulmuştur. Bu sonuç bizim çalışmamızdaki sağlıklı grubun % 41.17 lik cevaplılık oranından biraz daha az olmasına karşılık, hasta grubumuzun % 100 cevapsızlığı yanında oldukça yüksektir (8).

Delafunte ve arkadaşlarının büyük çoğunluğu hücresele immünitenin düşüklüğü ile ilgili olmayan kronik kardiyopulmoner hastalıklar, diabet ve böbrek yetmezliğine sahip hastalardan 55 yaşın altındaki kişilerde bulunduğu % 44 TT cevaplılığı da sağlıklı grubumuzun sonuçlarına yakındır (5).

Avustralya'da yapılan iki çalışmada ise sonuçlar oldukça farklıdır. Whittingham ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada TT ile aşılannmış sağlıklı kişilerde TT ve CA'ya karşı eşit olarak % 79 luk pozitif cevap tesbit edilmiştir. Daha önce aşılannmış 8 kişi ise TT'ne karşı anerjik bulunmuştur (21). Johnson ve arkadaşlarının çalışmasında ise sağlıklı kişilerde en yüksek cevaplılık oranı % 81 ile TT ve SK/SD a karşı elde edilmiştir (10). Her iki çalışmadaki TT cevaplılığı bizim çalışmamızdaki % 47,17 cevaplılık oranından oldukça yüksek olup bu durum coğrafi farklılığa bağlı olabilir.

Kniker ve arkadaşları da normal yetişkinlerde TT ne karşı % 77 pozitif cevaplılık bulmuşlardır. Fakat burada antijen deri içi tekniği ile uygulanmış ve 2 mm. lik bir endurasyon pozitif kabul edilmiştir (12).

Bu çalışmalardan şu sonuçlar ortaya çıkmaktadır:

1. Gecikmiş tip aşırı duyarlık reaksiyonlarının incelenmesinde deri testleri mutlaka birkaç antijen ile bir batarya şeklinde uygulanmalıdır.
2. Deri testi antijenlerinden en fazla pozitif cevap oluşturanlar SK/SD , CA ve PPD olup, SK ve TT daha az reaktif bulunmuştur.
3. TT'de deri testi bataryasında yer alabilir. En iyi kombinasyonu da PPD ile oluşturmaktadır.
4. TT deri testi yapılacak kişilerin önceden TT ile aşılannmış olmalarının bilinmesi tercih edilmekle birlikte şart da değildir.
5. Kadınlarla erkekler arasında TT'ne cevap verme açısından fark yoktur.
6. 45 yaşın altındaki erişkinler arasında TT'ne cevap verme açısından fark yoktur.
7. TT deri testi pozitifliği, % E-Rozet ve Net T-lenfosit sayılarının en azından normal olduğunun bir göstergesi olarak kabul edilebilir.

## KAYNAKLAR

1. Bernstein, I. L.: Proceedings of the Task Force on Guidelines for Standardizing Old and New Technologies Used For the Diagnosis and Treatment of Allergic Diseases. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 82: 487-526, 1988.
2. Griffin, R.E., Champagne, C.D., Bistran, B.R., Dipalma. S.A., Blackburn, G.L., Benotti, P.N.: Delayed Cutaneous Hypersensitivity Response in Patients Receiving Nutritional Support. *Clinical Pharmacy* 2: 432-435, 1983.
3. Diri, C.: Normal İmmün Cevap ve Laboratuvar Değerlendirilmesi. *Ankara Hast. Dergisi*, 23: 91-100, 1988.
4. Delafuente, J.C., Eisenberg, J.D., Hoelzer, D.R., Slavin, R.G.: Tetanus Toxoid as an Antigen For Delayed Cutaneous Hypersensitivity, *JAMA*, 249: 3209-3211, 1983.
5. Gahr, R., Imhoff, M., Pennekamp, A., Hoffmann, P.: Prognose Abschätzung Bei Polytraumatisierten Patienten Durch Bestimmung der Zellularen Immunität Mittels Intradermalen Stempeltestes. *Unfallchirurg*, 90: 428-434, 1987.
6. Gordon, E.H., Kinney, J.L., Stiehm, E.R., Klaustermeyer, W.B.: Delayed Cutaneous Hypersensitivity in Normals: Coice of Antigenes and Comparison to In Vitro Assays of Cellmediated Immunity. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 72: 487-494, 1983.
7. Sears, S.D., Fox, R., Brookmeyer, R., Leavitt, R., Polk, B.F.: Delayed Hypersensitivity Skin Testing and Anergy in a Population of Gay Men. *Clin. Immunol. and Immunopathology*, 45: 177-183, 1987.
8. Whittingham, S., Feery, B. Mackay, I.R.: Use of Tetanus Toxoid for Testing Cell-Mediated Immunity, *Aust. N.Z.J. Med.*, 12: 511-514, 1982.
9. Barrett, J.T.: *Textbook of Immunology*, Fifth Edition, St. Louis, Washington D.C., Tronto, C.V., Mosb, 1988, 3-24, 121-145, 301-356.
10. Callaghan, J.T., Petersen, B.H., Smith, W.C., EpINETTE, W.W., Ransburg, R.C.: Delayed Hypersensitivity to Mumps Antigen in Humans. *Clinical Immunol. and Immunopathology*, 26: 102-110, 1983.
11. Ponte, C.D.: Delayed Cutaneous Hypersensitivity Testing. *Southern Medical Journal*, 75: 1076-1079, 1982.
12. Manos, G.E., Santen, G.W. van, Kuijpers, A.L., Coutinho, R.A.: Tuberculin and "Multitest" Skin Tests in Drug Abusers. *The Lancet*, II: 567-568, 1987.
13. Morley, S.M., Beck, J.S., Grange, J.M., Brown, R.A., Kardjito, T.: The Method of Preparation of an Antigen May Influence the Cellular Reaction to It in Skin Tests for Delayed Hypersensitivity: Comparison Between Responses to Two Different Reagents Prepared From Mycobacterium Tuberculosis. *Clin. Exp. Immunol.*, 69: 584-590, 1987.
14. Steele, R.W. Crabtree, B.L., Smith G.R., Marmer, D.J.; Immunologic Responses Following Serial Skin Testing. *J. Of Immunological Methods*, 86: 213-216, 1986.
15. Johnson, C., Walls, R.S., Ruwoldt, A.: Delayed Hypersensitivity to Tetanus Toxoid in Man: In Vivo In Vitro Studies. *Pathology*, 15: 369-372, 1983.
16. Roberts, S.C., Shepherd, W.M.: Antitetanus Vaccination. *British Med. Journal*, 294: 250, 1987.
17. Kastrop, E.K., Olin, B.R., Schwach, G.H.: *Drug Facts and Comparisons*, 1987, 1657-1670.
18. Saxon, A., Barnett, E.: Human Auto-Antiidiotypes Regulating T. Cell- Mediated Reactivity to Tetanus Toxoid. *J. Clin Invest.*, 73: 342-348, 1984.
19. Haverly, R.W., Mansfield, L.E., Ting, S.: A Comparison Between Streptokinase/Streptodornase on Delayed Hypersensitivity Skin Testing. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 74: 205-207, 1984.
20. Kniker, W.T., Anderson, C.T., Roumantzeff, M.: The Multitest system: A Standardized Approach to Evaluation of Delayed Hypersensitivity and Cell Mediated Immunity. *Ann. Allergy*, 43: 73-74, 1979.
21. Sümbüloğlu, K.: Sağlık Bilimlerinde Araştırma Teknikleri ve İstatistik, Çağ Matbaası, Ankara 1978, 146-178.