

Evaluation of the results of lymphocyte transformation test in patients with hypersensitivity reactions following phenytoin usage and control group

Zahra Karami¹, Mehrnaz Mesdaghi^{1*}, Zahra Chavoshzadeh², parvaneh Karimzadeh², Mahboubeh Mansouri³, Reza Shekarriz⁴

1. Department of Immunology, School of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

2. Department of Immunology and Allergy, Mofid Children's Hospital, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

3. Mofid Children's Hospital, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

4. Department of Social Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

(Received: 2015/01/14

Accept: 2015/11/28)

Abstract

Backgroundm: Administration of phenytoin can be associated with severe adverse reactions such as hypersensitivity reactions. Lymphocyte transformation test (LTT) can be a useful method for determination of the drug, which has caused hypersensitivity reaction. This study was done to evaluate the results of lymphocyte transformation test in patients with delayed hypersensitivity reactions following phenytoin administration and control group.

Methods: In a case-control study, four patients with hypersensitivity reactions following administration of phenytoin and ten patients, who had used phenytoin without hypersensitivity reactions, were included. Peripheral blood mononuclear cells were isolated. The cells were stimulated with Phenytoin, PHA (Phytohaemagglutinin) as a mitogen and candida as an antigen. Lymphocyte proliferation was measured using Brdu proliferation assay kit (Roche, Germany). The stimulation index was calculated by dividing OD of stimulated to unstimulated cells. Stimulation index more than 2 was considered as positive. The results in case and control groups were compared, using Fisher's exact test.

Results: Out of 4 patients in the test group, 3 had positive LTT results and one had negative test result. Among patients in control group, none of them had positive LTT result. This difference was statistically significant ($p=0.002$). The mean time between development of drug reactions and perform the LTT was 16 ± 6.9 months in the test group with positive result and 38 months in test group with negative test result. This difference was not statistically significant ($p=0.174$).

Keywords: LTT can be a helpful method in diagnosis of the drug that has caused hypersensitivity reaction.

* Corresponding author: Mehrnaz Mesdaghi, mehrnaz_mesdaghi@yahoo.com

بررسی نتایج تست تحریک لنفوسیتی در مبتلایان به واکنش‌های ازدیاد حساسیت به دنبال مصرف فنی توئین و گروه شاهد

زهرا کرمی^۱، مهرناز مصداقی*^۱، زهرا چاوش زاده^۲، محبوبه منصوری^۲، پروانه کریم زاده^۳، رضا شکرریز^۴

- ۱- گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
 ۲- گروه ایمونولوژی، بیمارستان کودکان مفید، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
 ۳- گروه اعصاب، بیمارستان کودکان مفید، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
 ۴- گروه پزشکی اجتماعی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۴/۹/۷

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۳/۱۰/۲۴

چکیده

سابقه و هدف: مصرف فنی توئین می‌تواند همراه با واکنش‌های دارویی مختلفی از جمله ازدیاد حساسیت دارویی باشد. تست تحریک لنفوسیتی ممکن است روشی مفید برای تشخیص داروی ایجادکننده واکنش افزایش حساسیت باشد. بنابراین برای بررسی نتایج تست تحریک لنفوسیتی در مبتلایان به واکنش‌های ازدیاد حساسیت به دنبال مصرف فنی توئین و گروه شاهد این مطالعه انجام شد.

مواد و روش‌ها: این مطالعه به روش مورد-شاهدی انجام شد. گروه مورد شامل چهار بیمار مبتلا به واکنش‌های ازدیاد حساسیت به دنبال مصرف فنی توئین و گروه شاهد، شامل ۱۰ نفر (افرادی که فنی توئین مصرف کرده، ولی عوارض حساسیت دارویی نداشتند) بودند. سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی بیماران به وسیله گرادیان غلظتی با ماده فایکول جدا شد و با فنی توئین، *Phytohaemagglutinin* به‌عنوان میتوزن و کاندیدا به‌عنوان آنتی‌ژن تحریک شدند. میزان تکثیر سلولی با کیت 5-bromo-2'-deoxyuridine ارزیابی شد و نتایج به صورت اندکس تحریک پذیری بیان شد. اندکس تحریک پذیری بیشتر از ۲ مثبت در نظر گرفته شد و دو گروه با آزمون دقیق فیشر مقایسه شدند.

نتایج: از چهار نفر بیمار مصرف‌کننده فنی توئین در گروه آزمون سه نفر نتیجه تست مثبت و یک نفر نتیجه منفی داشت و در گروه کنترل نتایج همه بیماران منفی بود ($P < 0.01$)

میانگین فاصله بین زمان واکنش دارویی و انجام تست تحریک لنفوسیتی در گروه آزمون در کسانی که نتیجه تست LTT مثبت داشتند $6/9 \pm 16$ ماه و در کسانی که نتیجه تست منفی داشتند ۸۳ ماه بود که این اختلاف به لحاظ آماری معنادار نبود ($p = 0/174$).

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد نتایج تست تحریک لنفوسیتی می‌تواند در تشخیص عامل ایجادکننده واکنش‌های افزایش حساسیت دارویی کمک‌کننده باشد.

واژگان کلیدی: تست تحریکی لنفوسیتی، داروهای ضد تشنج، ازدیاد حساسیت دارویی، فنی توئین

مقدمه:

این واکنش‌ها استفاده می‌شوند (۵) تحقیق‌ها نشان داده است که LTT ممکن است در تعیین داروی ایجادکننده واکنش کمک‌کننده باشد (۶، ۷). این تست بعد از تحریک لنفوسیت‌های T توسط میتوزن و آنتی‌ژن میزان تکثیر سلول‌ها و TH1، TH2، TH17^۲ غیره را ارزیابی می‌کند (۸، ۱۱). نتایج تست LTT به صورت SI^۳ (نسبت پرولیفراسیون در چاهک تحریک شده به چاهک تحریک نشده) گزارش می‌شود. بالا بودن SI همیشه با علائم کلینیکی شدید همراه نیست (۱۲).

از سال ۱۹۵۰ تاکنون روش‌های مختلفی برای بررسی واکنش‌های دارویی استفاده شده و نشان داده شده که عوامل مختلفی روی نتایج آزمایش‌ها اثرگذار است، از جمله

داروهای ضد تشنج می‌توانند باعث سندرم ازدیاد حساسیت شدید شوند، به‌ویژه زمانی که دوز بالای داروها به بیمار تجویز شود، احتمال بروز واکنش‌های جلدی افزایش می‌یابد (۱، ۲). سندرم ازدیاد حساسیت به شکل راش ماکولوپاپولر، اگزما، تب، لنفادنوپاتی و درگیری ارگان‌های داخلی (شامل کبد، کلیه، ریه و سیستم گردش خون) خود را نشان می‌دهد (۱، ۳). فعال شدن لنفوسیت‌های T اختصاصی دارو نقش اصلی را در واکنش‌های تأخیری مثل: SJS/TEN^۴ ایفا می‌کنند (۴). تست تحریک لنفوسیتی (LTT^۵ lymphocyte transformation test) و تست‌های پوستی اغلب در تشخیص

نویسنده مسئول: مهرناز مصداقی استادیار گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی،

دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی،

mehrnaz_mesdaghi@yahoo.com

1- Necrosis Stevens-Johnson Syndrome/Toxic Epidermal

2- Thelper

3- Stimulation index

می‌کند. (۱۰)

دوز مناسب برای انجام آزمون تکثیر لنفوسیتی، غلظتی از دارو است که تکثیر ناشی از PHA لنفوسیت‌ها را مهار نکرده و بیشترین پرولیفراسیون را در لنفوسیت‌های افراد حساس به آن دارو ایجاد می‌کند. (۱۰)

یافته‌ها:

اطلاعات دموگرافیک بیماران در جدول شماره ۱ نشان داده شده‌اند.

جدول ۱: اطلاعات دموگرافیک بیماران در گروه آزمون و کنترل

P value	منفی	مثبت	سابقه واکنش ازدیاد حساسیت
P=0. 19	۱۶/۷±۸/۲	۲۵/۱±۶/۵	سن (سال)
P=0. 62	۸ به ۲	۴ به ۰	نسبت مرد به زن

دوز مناسب دارو فنی‌توئین با غلظت ۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر تعیین شد. برای اطمینان از عملکرد سیستم ایمنی و قابل اعتماد بودن تست LTT، همزمان LTT با PHA به‌عنوان میتوز و کاندیدا به‌عنوان آنتی ژن انجام شد و نتایج در همه موارد نرمال بود.

در گروه آزمون میانگین سن در بیمارانی که نتیجه تست LTT مثبت داشتند ۱۵/۳۴ ± ۶/۵ سال و در کسانی که نتیجه تست منفی داشتند ۱۹ سال بود و در گروه کنترل میانگین سن در کسانی که نتیجه تست LTT منفی داشتند، ۱۶/۷ ± ۸/۲ سال، که در آزمون mann-whitney test به عمل آمده اختلاف معناداری بین نتایج تست LTT و متغیر سن در گروه کنترل (p=۰/۱۹) و نتایج تست LTT و متغیر سن در گروه آزمون دیده نشد (p=۰/۵۲۲).

از چهار بیمار گروه آزمون چهار بیمار مذکور بودند که سه بیمار از این افراد نتیجه تست مثبت و یک بیمار نتیجه منفی داشتند، از ۱۰ بیمار گروه کنترل هشت بیمار مذکور و دو بیمار مونث بودند که همه نتیجه تست منفی داشتند. در آزمون Fisher's exact test (آزمون دقیق فیشر) به عمل آمده اختلاف معناداری بین جنسیت و نتایج تست LTT در دو گروه آزمون و کنترل دیده نشد (p=۰/۶۲۵).

در بیماران گروه آزمون ۷۵ درصد نتیجه تست مثبت و ۲۵ درصد منفی و در گروه کنترل ۰ درصد نتیجه تست مثبت و ۱۰۰ درصد منفی داشتند. این تفاوت مشاهده شده به لحاظ آماری معناداری نبود (p=۰/۲) (جدول ۲).

جدول ۲: نتیجه تست LTT در بیماران گروه آزمون با مصرف داروی فنی‌توئین

P value	منفی	مثبت	آزمون
p=۰/۲	۱	۳	آزمون
p=۰/۲	۱۰	۰	کنترل

از میان چهار بیمار گروه آزمون سه بیمار SJS/TEN و یک بیمار DRESS داشتند و اختلاف آماری معناداری بین نوع داروی مصرفی و عارضه ناشی از آن دیده نشد (p=۰/۵۴۴).

میانگین فاصله بین زمان واکنش دارویی و انجام تست LTT در گروه آزمون در کسانی که نتیجه تست LTT مثبت داشتند ۱۶ ± ۶/۹ ماه و در کسانی که نتیجه تست منفی داشتند ۳۸ ماه بود. در آزمون mann-whitney test به عمل آمده بین فاصله زمانی انجام تست LTT و زمان واکنش دارویی و نتایج تست اختلاف معناداری به لحاظ آماری دیده نشد (p=۰/۱۷۴).

از چهار بیمار در گروه آزمون سه بیمار نتیجه تست مثبت داشتند، از بین این افراد دو بیمار واکنش SJS/TEN، یک نفر واکنش DRESS، از چهار بیمار یک بیمار نتیجه تست منفی داشتند که مبتلا به واکنش SJS/TEN بود. (جدول ۳)

این عوامل زمان انجام تست بعد از ایجاد واکنش حساسیت دارویی، تظاهرات کلینیکی، نوع دارو و ... را می‌توان نام برد. حساسیت تست LTT به‌طور کلی حدود ۷۰ درصد گزارش شده است. (۱۳)

ممکن است LTT روشی مناسب برای تعیین داروی ایجادکننده حساسیت در فرد بیماری که چندین داروی ضد تشنج مصرف کرده و دچار واکنش ازدیاد حساسیت دارویی شده باشد. شناسایی داروی ایجادکننده واکنش موجب می‌شود تا از حذف غیرضروری داروهای ضد تشنج که به عارضه منجر نمی‌شوند، جلوگیری شود.

از آنجا که مطالعه‌های پیشین نتایج مختلفی نشان داده‌اند و مطالعه‌ای در ایران برای بررسی نتایج LTT در بیماران مبتلا به واکنش‌های افزایش حساسیت به دیال مصرف داروها انجام نشده است، این مطالعه در بیمارستان کودکان مفید در سال ۱۳۹۲ با مقایسه گروه مورد و شاهد انجام شد.

مواد و روش‌ها:

مطالعه به صورت مورد-شاهد و از میان بیماران مراجعه‌کننده به بیمارستان مفید، چهار بیمار که در گذشته به دلیل تشنج، فنی‌توئین مصرف کرده و دچار سندرم ازدیاد حساسیت دارویی شده بودند، وارد این مطالعه شدند. تشخیص سندرم ازدیاد حساسیت دارویی در این افراد از سوی پزشک فوق تخصص آلرژی-ایمونولوژی انجام شد. (۳۷) نمونه‌گیری با رضایت کامل و آگاهانه (در بیمارانی که به سن قانونی نرسیده‌اند با رضایت والدین بیمار) انجام شد و تمام نتایج محرمانه تلقی شد و در صورت تمایل در اختیار آن‌ها قرار گرفت و به ازای انجام آزمایش‌ها، افراد متقبل هیچ گونه هزینه‌ای نشدند.

گروه کنترل: از میان بیماران مراجعه‌کننده به بیمارستان مفید، ۱۰ بیمار که در گذشته به دلیل تشنج، داروی فنی‌توئین مصرف کرده و دچار سندرم ازدیاد حساسیت دارویی نشده بودند، وارد مطالعه شدند.

مکان و زمان مطالعه: این مطالعه در آزمایشگاه مرکز تحقیقات عفونی و درمانگاه اعصاب بیمارستان کودکان مفید و گروه ایمونولوژی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی انجام شد.

تهیه محلول دارو: مقدار ۵ Mg از پودر دارو در پنج سی سی آب مقطر حل شد. سپس با دستگاه سونیکاتور، سونیکیت و در فریزر ۲۰- ذخیره شد.

انجام تست تحریک لنفوسیتی:

از هر بیمار پنج سی سی خون هپارینه گرفته شد، جداسازی و تخلیص سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی، با استفاده از فایکول انجام شد. در هر چاهک پلیت کشت سلولی ۲۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون سلولی ریخته شد و با غلظت مناسب و غیرتوکسیک فنی‌توئین (۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) تحریک شد. در یک چاهک ۲۰۰ لاندا سوسپانسیون سلولی بدون تحریک باقی ماند و در یک چاهک سلولی PHA2% به‌عنوان میتوزین استفاده شد. در یک چاهک نیز از کاندیدای آلیکسنس به‌عنوان آنتی ژن استفاده شد.

تعیین میزان پرولیفراسیون سلولی با استفاده از کیت Brdu^۱ شرکت Roche بررسی شد. نتایج تست در گروه بیماران با نتایج گروه کنترل (افرادی که داروی فنی‌توئین را مصرف کرده‌اند و دچار واکنش نشده‌اند) مقایسه شد. نتیجه به صورت SI (نسبت OD در چاهک تحریک شده به چاهک تحریک نشده) گزارش شد. همه موارد به صورت triplicate انجام شد و میانگین آن‌ها برای محاسبه استفاده شد. اندکس تحریک پذیری بیشتر از ۲ مثبت در نظر گرفته شد و دو گروه با آزمون دقیق فیشر مقایسه شدند.

تعیین دوز توکسیک و دوز مناسب داروها:

برای تعیین دوز توکسیک، برای دارو پنج چاهک اختصاص داده شد. سوسپانسیون سلولی با غلظت یک میلیون در هر میلی‌لیتر محیط کشت کامل تهیه شد و ۲۰۰ میکرولیتر از آن در هر چاهک پلیت کشت سلولی ریخته و PHA2 درصد به‌عنوان میتوزین ریخته و غلظت دارو به مقدار پنج میکروگرم بر میلی‌لیتر، ۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، ۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر، ۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، ۲۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر به هر چاهک اضافه و خوب پیتاژ شد و پلیت در انکوباتور ۳۷ درجه با ۵ درصد CO2 به مدت پنج روز قرار داده شد و پرولیفراسیون لنفوسیت‌ها با کیت Brdu^۱ با روش بالا بررسی شد.

دوزتوکسیک، میزان غلظتی از دارو است که تکثیر سلولی ناشی از PHA را مهار

- 5bromo-2'-deoxyuridine

- Journal of allergy and clinical immunology. 2003;111 (6): 1393-403.
10. 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. *Molecular pharmacology*. 2003;63 (3): 732-41.
 11. Hari Y, Frutig-Schnyder K, Hurmi M, Yawalkar N, Zanni MP, Schnyder B, et al. T cell involvement in cutaneous drug eruptions. *Clinical and experimental allergy: journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology*. 2001;31 (9): 1398-408.
 12. Roujeau JC, Albengres E, Moritz S, Piacentino A, Cuny M, Revuz J, et al. Lymphocyte transformation test in drug-induced toxic epidermal necrolysis. *International archives of allergy and applied immunology*. 1985;78 (1): 22-4.
 13. Elzagallaai AA, Knowles SR, Rieder MJ, Bend JR, Shear NH, Koren G. In vitro testing for the diagnosis of anticonvulsant hypersensitivity syndrome: a systematic review. *Molecular diagnosis & therapy*. 2009;13 (5): 313-30.
 14. Pham BABANH. *Drage Allergy: Clinical Aspect, Diagnosis, Mecanism, Structure-Activity Relationships*. New York 2013 2013. 120-7 p.
 15. Galindo PA, Borja J, Gomez E, Mur P, Gudín M, Garcia R, et al. Anticonvulsant drug hypersensitivity. *Journal of investigational allergology & clinical immunology*. 2002;12 (4): 299-304.
 16. Kaur S, Sarkar R, Thami GP, Kanwar AJ. Anticonvulsant hypersensitivity syndrome. *Pediatric dermatology*. 2002;19 (2): 142-5.
 17. Bavdekar SB, Muranjan MN, Gogtay NJ, Kantharia V, Kshirsagar NA. Anticonvulsant hypersensitivity syndrome: lymphocyte toxicity assay for the confirmation of diagnosis and risk assessment. *The Annals of pharmacotherapy*. 2004;38 (10): 1648-50.
 18. Mockenhaupt M, Messenheimer J, Tennis P, Schlingmann J. Risk of Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis in new users of antiepileptics. *Neurology*. 2005;64 (7): 1134-8.
 19. Seitz CS, Pfeuffer P, Raith P, Brocker EB, Trautmann A. Anticonvulsant hypersensitivity syndrome: cross-reactivity with tricyclic antidepressant agents. *Annals of allergy, asthma & immunology: official publication of the American College of Allergy, Asthma, & Immunology*. 2006;97 (5): 698-702.
 20. Thong BY, Mirakian R, Castells M, Pichler W, Romano A, Bonadonna P, et al. A world allergy organization international survey on diagnostic procedures and therapies in drug allergy/hypersensitivity. *The World Allergy Organization journal*. 2011;4 (12): 257-70.
 21. Armin S, Chavoshzadeh Z, Mohkam M, Rezaei N. Antiepileptic hypersensitivity and DRESS syndrome due to phenytoin in two pediatric cases. *The Turkish journal of pediatrics*. 2009;51 (1): 76-7.
 22. Constable S, Farrell J, Naisbitt D, King C, Leonard N, Pirmohamed M. Systemic illness with skin eruption, fever and positive lymphocyte transformation test in a patient on irbesartan. *The British journal of dermatology*. 2006;155 (2): 491-3.
 23. Kardaun SH, de Monchy JG. Acute generalized exanthematous pustulosis caused by morphine, confirmed by positive patch test and lymphocyte transformation test. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 2006;55 (2 Suppl): S21-3.
 24. Seishima M, Yamanaka S, Fujisawa T, Tohyama M, Hashimoto K. Reactivation of human herpesvirus (HHV) family members other than HHV-6 in drug-induced hypersensitivity syndrome. *The British journal of dermatology*. 2006;155 (2): 344-9.
 25. Bastuji-Garin S, Rzany B, Stern RS, Shear NH, Naldi L, Roujeau JC. Clinical classification of cases of toxic epidermal necrolysis, Stevens-Johnson syndrome, and erythema multiforme. *Archives of dermatology*. 1993;129 (1): 92-6.
 26. Shiohara T, Inaoka M, Kano Y. Drug-induced hypersensitivity syndrome (DIHS): a reaction induced by a complex interplay among herpesviruses and antiviral and antidrug immune responses. *Allergology international: official journal of the Japanese Society of Allergology*. 2006;55 (1): 1-8.
 27. Shiohara T, Kano Y. A complex interaction between drug allergy and viral infection. *Clinical reviews in allergy & immunology*. 2007;33 (1-2): 124-33.
 28. Shiohara T, Iijima M, Ikezawa Z, Hashimoto K. The diagnosis of a DRESS syndrome has been sufficiently established on the basis of typical clinical features and viral reactivations. *The British journal of dermatology*. 2007;156 (5): 1083-4.
 29. Kano Y, Inaoka M, Shiohara T. Association between anticonvulsant hypersensitivity syndrome and human herpesvirus 6 reactivation and hypogammaglobulinemia. *Archives of dermatology*. 2004;140 (2): 183-8.
 30. Nyfeler B, Pichler WJ. The lymphocyte transformation test for the diagnosis of drug allergy: sensitivity and specificity. *Clinical and experimental allergy: journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology*. 1997;27 (2): 175-81.
 31. Pichler WJ, Tilch J. The lymphocyte transformation test in the diagnosis of drug hypersensitivity. *Allergy*. 2004;59 (8): 809-20.
 32. 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. *Journal of immunology*. 1995;155 (1): 462-72.
 33. Kano Y, Hirahara K, Mitsuyama Y, Takahashi R, Shiohara T. Utility of the lymphocyte transformation test in the diagnosis of drug sensitivity: dependence on its timing and the type of drug eruption. *Allergy*. 2007;62 (12): 1439-44.
 34. Tang YH, Mockenhaupt M, Henry A, Bounoua M, Naldi L, Le Gouvello S, et al. Poor relevance of a lymphocyte proliferation assay in lamotrigine-induced Stevens-Johnson syndrome or toxic epidermal necrolysis. *Clinical and experimental allergy: journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology*. 2012;42 (2): 248-54.
 35. Gex-Collet C, Helbling A, Pichler WJ. Multiple drug hypersensitivity-proof of multiple drug hypersensitivity by patch and lymphocyte transformation tests. *Journal of investigational allergology & clinical immunology*. 2005;15 (4): 293-6.
 36. Houwerzijl J, De Gast GC, Nater JP, Esselink MT, Nieweg HO. Lymphocyte-stimulation tests and patch tests to carbamazepine hypersensitivity. *Clinical and experimental immunology*. 1977;29 (2): 272-7.
 37. Bastuji-Garin S, Rzany B, Stern RS, Shear NH, Naldi L, Roujeau JC. Clinical classification of cases of toxic epidermal necrolysis, Stevens-Johnson syndrome, and erythema multiforme. *Archives of dermatology*. 1993;129 (1): 92-6.