

AKCİĞER TÜBERKÜLOZU TANISINDA 38kDa
ANTİJENİNE ÖZGÜL IgG'NİN ÖLÇÜLMESİNİN
ÖNEMİ VE DEĞERİ

VALUE OF THE DETECTION OF IgG LEVELS TO 38kDa
ANTIGEN IN THE DIAGNOSIS OF
PULMONARY TUBERCULOSIS

Dr.Ayşegül ŞENTÜRK^a,
Dr.Hatice Kutbay ÖZÇELİK^b,
Dr.Arman POLUMAN^c

^aAtatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi,
Göğüs Hastalıkları Kliniği,
ANKARA

^bBezmialem Vakıf Üniversitesi,
Göğüs Hastalıkları Kliniği,
İSTANBUL

^cYedikule Göğüs Hastalıkları ve,
Göğüs Cerrahisi 3.Göğüs Kliniği,
İSTANBUL

Yazışma Adresi / Correspondence:

Dr. Ayşegül ŞENTÜRK
Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi
Göğüs Hastalıkları Kliniği
e-mail: asenturk1967@myynet.com

ÖZET: Tüberkülozun (TB) erken ve hızlı tanısı hala önemli bir problemdir. Bu nedenle klasik tanı yöntemlerinin dışında spesifik, hızlı, pratik ve güvenilir yeni tanı yöntemleri araştırılmaktadır. Bu çalışmada, aktif TB hastalarında Enzim Linked Immun Assay (ELISA) ile mikobakterilerin 38kDa antijenine karşı oluşan IgG antikor cevabının ve PPD testi ile bu antikor cevabı arasındaki ilişkinin araştırılması planlandı.

Çalışmaya 486 aktif akciğer TB'lu, 23 inaktif tüberkülozlu, 100 TB dışı akciğer hastalığı olan ve 48 sağlıklı olgu alındı. Bu hastaların serumlarında mikobakterilerin 38 kDa antijenine karşı oluşan IgG antikoruna bakıldı. PPD pozitifliği ile ilişkisi değerlendirildi.

Çalışmamızda; 486 aktif akciğer TB'lu hastada IgG (+)'liği %53 (257 olgu) idi. Aktif akciğer TB'lu hastalarda IgG (+)'liğinin sensitivitesi %53 ve spesifitesi %99 bulundu. Aktif akciğer TB hastaları ile inaktif akciğer TB'lu, TB dışı akciğer hastaları ve sağlıklı kontrol grupları karşılaştırıldığında; aktif akciğer tüberkülozlu grubun IgG (+)'liğinde diğer gruplara göre anlamlı artış gösterilmiştir (p=0,0002 ve p=0,00001). PPD testi pozitif olanlarla negatif olanların IgG düzeyleri karşılaştırıldığında IgG düzeyi PPD testi pozitif olanlarda anlamlı olarak yüksekti) [1.065±1.06, 0.587±0.66 (p=0,003)] ve aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu .

Çalışma sonuçlarında, aktif akciğer tüberkülozlu olgularla inaktif formların ayırımında serum IgG (+) ölçümünün tanıya büyük katkı sağladığı düşünülmüştür. Ayrıca 38 kDa antijenine dayalı ELISA yöntemi; kolay temin edilebilen; hızlı, spesifik ve ucuz bir yöntem olduğundan epidemiyolojik araştırmalarda ve taramalarda da kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Aktif akciğer tüberkülozu, IgG pozitifliği, sensitivite, 38 kDa antijeni

ABSTRACT: Early and rapid diagnosis of tuberculosis is still an important problem. Therefore, outside the classical diagnostic methods, specific, rapid, practical and reliable new diagnostic methods are being investigated. In this study, IgG antibody response against 38kDa antigen of mycobacterium and correlation between PPD test and IgG antibody response was investigated in patients with active tuberculosis, by ELISA.

486 patients with active pulmonary tuberculosis, 23 patients with inactive tuberculosis, 100 patients with non-tuberculosis lung disease and 48 healthy subjects were enrolled into the study. IgG antibodies against mycobacterium 38kDa antigen were measured in the serum of these patients. And the correlation of the results to the PPD positiveness was evaluated.

In our study, IgG seropositivity was 53% (257 cases) in 486 patients with active pulmonary tuberculosis. Sensitivity and specificity of IgG positivity in active pulmonary tuberculosis patients were found 53% and 99%, respectively. Between active pulmonary tuberculosis patients and inactive pulmonary tuberculosis patients, non-tuberculosis lung disease patients and healthy control groups, IgG positivity was significantly higher in favor of the first group. (p=0,0002 and p=0,00001). IgG levels were significantly higher in the PPD positive patients than the PPD negative patients [1.065±1.06, 0.587±0.66 (p=0,003)]

Therefore, we think the test will greatly help in the differential diagnosis of active forms and inactive forms. Furthermore, because 38 kDa antigen ELISA method is a specific and cheap method it can be useful especially in the epidemiological studies .

Key words: Active pulmonary tuberculosis, IgG antibodies, sensitivity , 38kDa antigen.

Turkish Medical Journal 2010;4(2):46-54

Tüberküloz (TB) günümüzde dünyada başlıca halk sağlığını tehdit eden ve en sık ölüme neden olan enfeksiyon hastalığıdır. Her yıl 9 milyon aktif yeni hasta ortaya çıkmakta ve yaklaşık 2 milyon insan TB nedeniyle ölmektedir.¹ TB tanısında en önemli konu bakteriyolojik olarak etkeni yani TB basili bulmaktır. Ancak balgamda aside dirençli basilin (ARB) boyama yöntemiyle tespit edilmesi %50'den düşük oranlarda gerçekleşmektedir.² Kültür işlemi de uzun zaman almakta ve her zaman sonuç vermemektedir.

Son yıllarda çok ilaca dirençli (ÇİD) TB basili ile bulaşıcılığın artması, ekstrapulmoner TB ve çocuk TB olgularında tanı koyma zorluğu duyarlı ve hızlı sonuç veren yeni yöntemlerin aranmasına yol açmıştır. Yüksek duyarlılığa sahip olan polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) TB tanısına farklı bir boyut katmıştır. Günümüzde oldukça pahalı ve karmaşık yöntem olması, ölü ve canlı basili ayıramaması, yetmiş elemana ve ileri teknolojik yöntemlere ihtiyaç olması PCR'in dezavantajlarıdır.³ Gelişmekte olan pahalı tanı yöntemleri ve eğitilmiş elemanları sınırlı sayıda olan ülkelerde TB hastalarının antikor yanıtını serolojik olarak saptamaya dayalı Enzyme-Linked Immunosorbant Assay (ELISA) testi uzun zamandır gündemdedir.⁴ Serolojik olarak günümüzde Mycobacterium tuberculosis'e ait başta 38 kDa antijeni olmak üzere çok sayıda antijene (71, 65, 23, 19, 16,14 ve 12 kDa) karşı serolojik yanıt araştırılmıştır.⁵⁻⁷ 38 kDa'luk protein M.tuberculosis tarafından salınan en önemli proteindir. Aminoasit sırası *E.coli*'nin fosfat binding proteinine benzeşim göstermesi nedeniyle *E.coli*'den rekombinant antijen olarak üretilmiştir.^{8,9} 38 kDa'luk antijen hastalığı gösteren bir proteindir ve tamamen M.tuberculosis kompleksine özgüdür.

Çalışmamızda kullandığımız kit; saflaştırılmış lipo-arabinomannan antijeni (LAM) ile rekombinant 38 kDa antijeni içermekteydi. İlk antijen LAM tüm mikobakterium genusundaki üyelerde mevcut olup; yüksek antijenik özelliğe sahiptir. İkinci antijen ise, *M. tuberculosis* 'ten elde edilen yüksek derecede spesifik, rekombinant 38 kDa antijendir. Birçok araştırmada en öne çıkan serodiagnostik antijen olması; *M.kansasii*, *M.fortitum* veya *M.avium* ile çapraz reaksiyon vermesi, kolay temin edilebilmesinden dolayı çalışmamızda 38kDa antijenini tercih ettik.^{10,11}

Bu çalışmada; balgam çıkaramayan ARB (-) ak-

tif akciğer TB olgularında 38 kDa antijene özgül IgG yanıtı değerlendirmek; ARB (+) ve ARB (-) olguların özgül IgG değerleri arasında farklılık olup olmadığını göstermek amaçlandı. Serumda mikobakterilerin 38kDa antijenine karşı oluşan IgG antikor düzeyini ölçen ELISA testinin spesifitesi ve sensitivitesi değerlendirildi. Ayrıca akciğer TB'lu olgularda pürifiye protein derivesi (PPD) antijeni ile Mantoux deri testi pozitif olanlarla, negatif olan olgular arasında antikor düzeyi bakımından farklılık olup olmadığı araştırıldı.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmaya 486 aktif akciğer TB'lu, 23 inaktif akciğer TB'lu, 100 TB dışı akciğer hastalığı olan olgular ve 48 sağlıklı kişi olmak üzere toplam 657 kişi alındı.

Çalışmamıza alınan olguların yaşları 12-87 (36,99±15,38) arasında değişmekteydi. Bunların 590 (%89,8)'i erkek, 67 (%10,2)'si kadındı.

Olgular 4 tanı grubuna ayrıldı:

Grup 1 (Aktif akciğer TB olguları)

Bu grup klinik ve radyolojik olarak aktif akciğer TB'ü düşünülen olguları kapsamaktaydı. Aktif akciğer TB'lu hasta grubu 460'ı (%94) erkek, 26'sı (%6) kadın toplam 486 hastaydı. Bunların 388'ini (%80) yeni vakalar, 98'ini (%20) ise kronik vakalar oluşturmaktaydı. Olguların 309'da ARB (+)'liği saptandı. Yeni olguların semptomlarının başlama süresi çoğunda 3 aydan kısaydı. Yaşları 12-87 arasındaydı.

Grup 2 (İnaktif akciğer TB olguları)

Bu grup geçirilmiş akciğer TB öyküsü olan ve akciğer grafisinde TB sekel lezyonları bulunan, en az iki yıldır klinik aktif hastalık bulgusu olmayan hastaları kapsamaktaydı. Olgularımızda en düşük 2 en yüksek 32 yıl (ortalama 17 yıl) önce TB geçirme öyküsü mevcuttu. Bu gruptaki olgu sayısı 23 (%3,5) olup, 22'si (%96,6) erkek, 1'i (%4,4) kadındı. Yaş ortalaması 15-78 saptandı.

Grup 3 (TB dışı akciğer hastalığı olan olgular)

Bu grup akciğer TB'ü dışında başka tanılarla tedavi gören ve ARB negatif olan olgulardan oluşmaktaydı. Toplam olgu sayısı 100 olup bunların 27'si (%27) pnömoni, 19'u (%19) kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOA), 13'ü (%13) akciğer kanseri, 8'i (%8) parapnömonik effüzyon, 8'i (%8) ampiyem, 7'si (%7)

bronşektazi, 5'i (%5) pulmoner kist hidatik, 4'ü (%4) sarkoidoz, 3'ü (%3) diffüz interstisyel akciğer hastalığı, 2'si (%2) akciğer absesi, 1'i (%1) hamartom, 1'i (%1) karsinoid tümör, 1'i (%1) astım, 1'i (%1) pulmoner emboli tanısı ile takip edilen olgulardı. Yaşları 14-87 idi.

Grup 4 (Sağlıklı kontrol grubu)

Klinik ve radyolojik olarak normal kabul edilen 48 olgu alındı. Tüm olgularda ARB negatifti; 22'si (%46) erkek, 26'sı (%54) kadındı. Yaşları 17-57 arasındaydı.

Göğüs hastalıkları polikliniğine başvuran 657 olgu randomize olarak seçildi. Poliklinikte olgular ayrıntılı anamnezleri alındıktan sonra fizik muayene, klinik, laboratuvar ve radyolojik bulguları ile değerlendirildi. Balgam tanımlayan olguların balgam ARB (teksif

ren Pathozyma Myco kiti kullanıldı¹². IgG için cut-off değeri olarak üretici firmanın belirttiği 0,9 Optical Density(OD) ve ayrıca kontrol grubundan elde edilen değerlerin ortalamasına 2 standart sapma (SS) ilavesi ile sağlanan 0,632 OD değeri kullanıldı.

İstatistik Yöntemi

Değerlerin istatistiksel analizinde Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) paket kullanıldı. Gruplar ve parametreler arası farkların değerlendirilmesinde ANOVA testi kullanıldı. Ortalama aritmetik ortalaması±standart sapma (SS) olarak verildi. Ortalamalar arasındaki fark varyasyon analizi ile hesaplandı.

BULGULAR

Çalışmaya alınan 657 olgunun demografik özellikleri

Tablo 1. Olguların demografik özellikleri.

Gruplar	Olgu sayısı (n:657)	Cinsiyet (K/ E)	Yaş ortalama (min-max)
Grup 1	486	26/ 460	12-87 (36,99 ± 38)
Grup 2	23	1/ 22	15-78 (46,48 ± 17,61)
Grup 3	100	14/ 86	14-87 (50,1 ± 1,82)
Grup 4	48	26/ 22	17-57 (36,85 ± 11,5)

yöntemiyle ve Erlich Ziehl Nelson boyası ile)boyama ve *M.tuberculosis* için Löwenstein Jansen besiyeri kullanılarak kültürleri yaptırıldı. PPD testi uygulandı. BCG 'li olgularda 10mm üzeri BCG 'sizlerde ise 15 mm üzeri pozitif olarak kabul edildi. Tüm olgulardan 5 cc venöz kan alındı. Bu kanlar santrifüj edilerek serumları ayrıldı ve -85 C° 'de muhafaza edildi. Tüm gruplar tamamlandıktan sonra serumda ELISA testi ile mikobakterilerin 38kDa antijenine karşı oluşan IgG antikor düzeyi ölçüldü.

Antijenler

Çalışmamızda Omega Diagnostics tarafından araştırılıp geliştirilmiş olan; saflaştırılmış LAM antijeni ile birlikte rekombinan 38 kDa antijenini içe-

leri tablo 1'de sunulmuştur.

Tüm olgularımız (Grup1,2,3 ve 4) değerlendirildiğinde; IgG (+) olgu sayısı 258, IgG (-) olgu sayısı 399 idi. Tüm olguların, ARB pozitifliği ve serum IgG düzeyleri açısından subgrup analizi yapıldı (Tablo 2). Tüm grupların ortalama İmmünglobülinG Optical Density (IgG OD) değerleri ölçüldü. Aktif akciğer TB'lu 486 hastada cut-off 0,9 OD alındığında 257'sinde pozitif IgG cevabı elde edildi. Cut- off noktası; 0,632 OD olarak alındığında ise 275 vakada pozitiflik saptandı. İnaktif akciğer TB'lu olgularda her iki cut- off noktasında yalancı pozitiflik saptanmadı.TB dışı akciğer hastalığı grubunda 0,9 OD cut- off değeri için 100 olgunun 1'i yalancı pozitif cevabı idi. 0,632 OD cut- off noktası

Tablo 2. Grupların 0,9 OD cut-off değerine göre 38kDa antijenine karşı oluşan IgG değerlerinin sonuçları

Gruplar	Direk yayma ARB (- / +)	IgG (- / +)	IgG Ortalama±SS
1 Aktif akciğer TB olguları (n: 486)	177 / 309	229 / 257	1,248 ± 0,99
2 İnaktif akciğer TB olguları (n: 23)	23 / 0	23 / 0	0,438 ± 0,31 (0,1 -0,8)
3 TB dışı akciğer hastalığı olan olgular (n: 100)	100 / 0	99 / 1	0,337 ± 0,19 (0,07-1,26)
4 Sağlıklı kontrol grubu (n: 48)	48/0	48/ 0	0,352 ± 0,14 (0,1 -0,8)

olarak alındığında 6 olguda yalancı pozitiflik saptandı. Sağlıklı kontrol grubunda 0,632 OD cut-off değeri için 48 olgunun 2'sinde yalancı pozitiflik görüldü. 0,9 OD cut-off noktası olarak alındığında ise yalancı pozitiflik saptanmadı.

Serum IgG düzeyleri, aktif akciğer TB'lu grupta (Grup 1); grup 2, grup 3, grup 4 ile karşılaştırıldığında anlamlı yüksek bulundu ($p=0,0002$ ve $p=0,00001$). Çalışmada tüm olgularla, ARB (+) olgularda serum IgG düzeyi ve ARB (-) olgulara göre anlamlı yüksek bulundu ($p<0,0001$).

Aktif akciğer TB'lu olgular ile aktif tüberküloz dışı olan gruplar (inaktif akciğer TB olguları, tüberküloz dışı akciğer hastalığı olanlar, sağlıklı kontrol grubu) birlikte değerlendirildiğinde 38kDa antijenine karşı oluşan IgG tetkikinun sensitivitesi %53, spesifitesi

yüksek serum IgG düzeyi saptanmasına rağmen fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p<0,05$). Bu gruptaki olguların, ARB pozitif ve negatif olan gruplara göre IgG dağılımı; olgu sayısı açısından tablo 4' de sunulmuştur. Buna göre ARB(+) ve (-) olan gruplar IgG açısından karşılaştırıldığında sensitivite %53 ve spesifite %53 olarak bulundu.

PPD testi tüm olguların 587'sinde (%89,5) pozitif, 69'unda (%10,5) negatif saptandı. PPD testi pozitif olanlarla negatif olanların IgG düzeyleri karşılaştırıldığında IgG düzeyi PPD testi pozitif olanlarda anlamlı olarak yüksekti [$1,065\pm 1,06$, $0,587\pm 0,66$ ($p=0,003$)] (Tablo 5).

ARB tetkikinun sensitivitesi ve spesifitesi aktif TB ve aktif tüberküloz dışı olan gruplar (inaktif akciğer TB olguları, tüberküloz dışı akciğer hastalığı olanlar,

Tablo 3. Aktif akciğer TB'lu hastalar ile diğer 3 gruptaki olguların (inaktif akciğer TB olguları, tüberküloz dışı akciğer hastalığı olanlar, sağlıklı kontrol grubu) Ig G karşılaştırması

	Aktif TB'lu hastalar	Aktif TB dışı olgular	Toplam
IgG(+)	257	1	258
IgG(-)	229	170	399
Toplam	486	171	657

Tablo 4. Aktif TB'lu olgularda 0,9 cut-off değerine ve ARB (-/+)'liğine göre IgG dağılımı

	ARB (+) hastalar	ARB (-) hastalar	Toplam
IgG (+)	163	94	257
IgG (-)	146	83	229
Toplam	309	177	486

Tablo 5. Tüm olgularda PPD (+) ve PPD (-) olanlarda 38kDa antijenine karşı oluşan IgG ortalamalarının karşılaştırılması

	Ortalama IgG \pm SS(OD)	p
PPD (+) olgular n:588	$1,065 \pm 1,06$ (0,06 -6,1)	0.003
PPD (-) olgular n:69	$0,587 \pm 0,659$ (0,07 -0,74)	

Tablo 6. Aktif TB ve olgular ile aktif tüberküloz dışı olan gruplarda (inaktif akciğer TB olguları, tüberküloz dışı akciğer hastalığı olanlar, sağlıklı kontrol grubu) ARB pozitifliği

	Aktif TB	Aktif TB dışı olgular	Toplam
ARB(+)	309	-	309
ARB(-)	177	171	348
Toplam	486	171	657

%99 olarak saptandı(Tablo 3).

Çalışmada aktif akciğer tüberkülozlu grupta; ARB (+) ve ARB (-) olan olgular serum IgG düzeyi açısından karşılaştırıldığında ARB pozitif olgularda daha

sağlıklı kontrol grubu) karşılaştırıldığında sırası ile % 63 ve % 100 olarak bulunmuştur. (Tablo 6)

Tüm olgularda elde ettiğimiz bu sonuçlarla 0,9 OD

Tablo 7. Günümüze kadar 38kDa ile yapılmış büyük serili çalışmalar

ÇALIŞMACI	YILI	ANTİJEN	SENSİTİVİTE	SPESİFİTE
Ivanys ve ark.(28)	1983	38 kDa	% 74-78	%100
Verbon ve ark.(17)	1993	38kDa	% 54	% 98
Ahmad ve ark. (29)	1995	38kDa	%64	%88
Chiang ve ark.(4)	1997	38kDa	% 64,21	% 80,74
Grubek ve ark.(19)	1997	38kDa	% 40	% 81
Pottumarthy ve ark. (30)	2000	38kDa + LAM	% 55	% 89
Demkow ve ark.(31)	2002	38kDa	% 58	% 99
Bhatia AS ve ark.(32)	2003	38kDa	% 64	% 81
Imaz ve ark.(21)	2003	38kDa ARB (+) hastalarda	% 82	%100
		ARB (-) hastalarda	% 49	% 100
Julian ve ark. (33)	2004	38kDa	% 41	% 97
Fandinoc ve ark. (34)	2004	38kDa	% 36,1	% 91,6
Butt T ve ark. (35)	2004	38kDa +LAM	% 46	% 93
Apan TZ (9)	2004	38kDa	% 66,7	% 100
Şenol G ve ark. (36)	2007	38kDa	% 52,5	% 93,3
Jacobus H ve ark (37)	2008	38kDa + LAM	% 80	% 80
		38kDa +16kDa	% 50	% 90
Lee Ji-Sook ve ark. (20)	2008	38kDa	% 57	% 98,2
Öz T ve ark. (38)	2009	38kDa	% 64,7	% 89,7
Xueqiong Wu ve ark. (10)	2010	38kDa	% 73,6	% 85,4
Ben Selma W ve ark. (39)	2010	38kDa + LAM	% 71	% 100
Ben Selma W ve ark.(39)	2010	38kDa +16kDa	% 43	%96,3

cut- off değeri için 38kDa antijenine karşı oluşan IgG tetkikinin sensitivitesi % 53, spesifitesi % 99, pozitif prediktif değeri % 99 , negatif prediktif değeri % 43 olarak bulundu. Kontrol grubu olarak sağlıklı erişkinleri aldığımızda IgG için cut-off noktasını 0,632 OD olarak bulduk. Cut- off değeri 0,632 OD olarak alındığında ise sensitivite % 56, spesifite % 95, pozitif prediktif değer %97, negatif prediktif değer %43 olarak saptandı.

TARTIŞMA

Akciğer tüberkülozunun tanısında alkol-aside rezistan basilin balgamda izolasyonu esastır. Testin duyarlılığı incelenen hasta popülasyonun özelliğine (kavite, HIV infeksiyon varlığı vb.) göre %20-80 arasında değişmektedir. Testin spesifitesi ise %99'un üstündedir.¹³ Zeiss ve arkadaşları doğrudan muayene nede balgamda ARB tespitinde sensitiviteyi %57 ve spesifiteyi %99 olarak bulmuşlardır.¹⁴ Çalışmamızda da benzer şekilde 486 aktif TB'lu hastanın 309'unda (%64) balgamda ARB pozitifliği saptandı. Sensivite % 63 ve spesifite %100 olarak bulundu. Olguların 6'sında (%0,9) ARB yaymada negatif olmasına rağmen kültürde pozitiflik tespit edildi.

Ekstrapulmoner TB'da, balgam çıkaramayan hastalarda muayene maddesinin temini zordur. Bazen TB tanısında bakteriyolojik materyalin alınması için daha invazif girişimler gerekmektedir. Bu nedenle tüm dünyada TB tanısına yardımcı olabilecek serolojik yöntemler değişik test teknikleri araştırılmıştır. ELISA'nın geliştirilmesinden sonra TB antijenine karşı antikoları saptayarak tanı konulabileceği üzerine çeşitli çalışmalar yapılmıştır.¹⁵

Eisenach ve arkadaşları yaptıkları çalışmada; 38kDa antijeni ile 30kDa, 16kDa, LAM, Antijen 60'ı ve ham antijenlere kıyasla daha yüksek spesifite elde ettiklerini rapor etmişlerdir.¹¹ ELISA'yı kapsayan birçok testte hasta olan olgular ile hastalığı olmayanların test sonuçlarında bir çakışma olabilir ki bu durumda pozitifleri, negatif sonuçlardan ayırmak için bir cut-off noktasının belirlenmesini gerektirir.

Bu çalışmada gruplar arası karşılaştırmalar çalışma kitinin önerdiği 0,9 OD cut-off değerine ve sağlıklı kontrol olgularının ortalama IgG OD değerine 2 SS ilavesi ile elde edilen 0,632 cut- off noktasına göre

yapıldı. Çalışmamızda cut-off değeri 0,9 alındığında kontrol grubunda yalancı pozitiflik görülmedi. Cut-off değeri 0,632 olarak alındığında ise bu gruptaki 48 sağlıklı olgunun 2'sinde (%4,16) yalancı pozitiflik saptandı. Daniel ve arkadaşları 59 sağlıklı kontrolde %9,1 yalancı pozitiflik elde etmişler.¹⁶ Verbon ve ark. 120 olguluk kontrol grubunda %2,5-11 arası, Chiang ve ark. ise 118 sağlıklı kontrolde %2,97 yalancı pozitiflik bildirmişlerdir.^{17,4} Ballestrino ise aynı antijenle 91 olgulu kontrol grubunda %7,2 yalancı pozitiflik oranı bildirmiştir.¹⁸

Çalışmamızda cut-off noktası olarak 0,9 OD değeri kullanıldığında sensitivite %53 spesifite %99, pozitif prediktif değer %99, negatif prediktif değer %43 bulunmuştur. Cut-off noktası olarak 0,632 OD kullanıldığında ise sensitivite %56, spesifite %95, pozitif prediktif değer %97, negatif prediktif değer %43, olarak elde edilmiştir.

Verbon ve arkadaşları çalışmamızda olduğu gibi doğrudan 38kDa antijenine karşı TB 72 monoklonal antikorun tesbitine dayalı araştırmalarında sensitiviteyi %54, spesifiteyi %98, pozitif prediktif değeri %81 olarak rapor etmişlerdir.¹⁷ Chiang ve ark. ise 38 kDa IgG serolojik testini kullanarak sensitiviteyi %64,21, spesifiteyi %80,74, pozitif prediktif değeri %54, negatif prediktif değeri %86 olarak bulmuşlardır.⁴

Daniel ve arkadaşları antijen 5 olarak tanımladıkları 38 kDa antijeni ile yaptıkları çalışmada; spesifiteyi %98,3, sensitiviteyi %48,8, pozitif prediktif değeri %83,5 negatif prediktif değeri %91,6 olarak bildirmişlerdir.¹⁶ Yine aynı araştırmacıların Arjantin ve Çin'de yaptıkları çalışmada ise sensitivite %64-89 ve spesifite %100 saptanmıştır. Grubek ve ark. 38 kDa antijeni ile 13 TB'lu hastada ve 27 olgulu kontrol grubunda spesifiteyi %81, sensitiviteyi %40 şeklinde bulmuşlardır.¹⁹ Tablo 7'de bu konuda yapılan çalışmaların toplu bir dökümü görülmektedir.

Yukarıda belirtilen çalışmaların hepsinde spesifite %88-98 gibi yüksek değerlerde olmasına rağmen sensitivite %49-89 arasında değişmektedir. Çalışmamızda elde edilen sensitivite ve spesifite sonuçları literatür değerleri ile uyumlu bulunmuştur. Pozitif ve negatif test sonuçlarını ayıran cut-off değeri hesaplanacağı zaman genellikle sensitivite ve spesifite arasında biri-

nin zararına diğerinin yararına şeklinde bir ilişki mevcuttur. ELISA'da spesifite kullanılan antijene bağlıdır. Ham antijenlerle yapılan geniş serili çalışmalarda spesifite %97-98 olarak bildirilmiştir. Pürifiye antijenlerle ise bu değer %100'e ulaşabilmektedir.

ELISA testinin yararlılığını saptayabilmek için hastalığın tahmini prevalansına dayanılarak hesaplanan prediktif değerler kullanılmalıdır. TB prevalansı çok yüksek ülkede bir tanı testi için yüksek pozitif prediktif değer, çok yararlı olacağı halde; düşük negatif prediktif değer pek bir anlamı olmayacaktır. Oysa düşük prevalanslı bir ülkede negatif test sonucu tanıdan uzaklaşmak için çok değerli olmasına rağmen pozitif test sonucu, TB tanısı konmasında çok fazla yardımcı olmayacaktır. Ülkemizde TB prevalansının yüksek olması dolayısıyla 0,9 OD cut-off değeri için %99 olarak elde edilen pozitif prediktif değer literatürde belirtildiği gibi anlamlı bulunmuştur.

Çalışmamızda Grup 1 olan aktif akciğer TB'lu 486 olgumuzun 309'unda (%64) ARB (direkt yayma ve kültür) pozitifliğini saptadık. 257 (%53) olguda IgG (+), 229 (%47) olguda ise IgG (-)'ti. Ort. IgG OD değeri $1,248 \pm 0,99$ idi. ARB (+)'liği %64 oranındayken, IgG (+)'liği %53'tü. Burada %11'lik bir yanılma payı mevcuttu.

Grup 1'deki ARB (+) ve ARB (-) olgular IgG düzeyi açısından karşılaştırıldığında, ARB pozitif olan olgularda IgG (+)'liği ARB (-) olan olgulara göre daha yüksek bulundu. Grup 1'deki ARB (-) olan 177 olguda ise (aktif akciğer tüberkülozlu olguların %36'sı), IgG (+)'liği %53'lere çıkmaktadır. Bu bulgu, ARB (-) aktif akciğer tüberkülozlu olgularda IgG serodiagnozunun önemini kanıtlamaktadır.

Grup I'de ARB (+) olgularda IgG (+)'liği yüzdesinin ARB(-) olgulara göre yüksek saptanmasına rağmen bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Bunu da çalışmamıza aldığımız Grup I olgularının çoğunun yeni vaka olmasına, semptomlarının 3 aydan kısa ve lezyonlarının da sıklıkla yaygın olmamasına bağladık. Ji-Sook Lee ve arkadaşları TB tedavinin ilk 2 ayından sonra IgG antikor titresinin yükselmeye başladığını bildirmişlerdir.²⁰ Bu bulgu da sonuçlarımız ile uyumluydu.

Imaz ve arkadaşları ARB (-) 60 aktif TB'lu hastanın 27'sinde (%45) IgG antikor pozitifliği saptamışlardır.²¹ Brian'ın çalışmasında ise ARB (-) aktif TB'lu hastalarda sensitivite %62, spesifite ise %88 olarak rapor edilmiştir.²² Her iki çalışmanın da sonuçları bulgularımızla uyumlu bulunmuştur.

Yorgancıoğlu ve arkadaşları ARB (+) ve (-) aktif hastalar üzerinde yaptığı çalışmada aktif grupta humoral immünitenin belirgin arttığını, ARB (-) grupta IgG değerinin ise aktif akciğer tüberkülozlu gruptan düşük ancak sağlıklı kontrol grubundan yüksek olduğunu göstermişlerdir.²³

Bazı yazarlar; tüberküloz hastalığının yaygınlığı veya basil yükü ile ELISA sonuçlarının uyumlu olduğunu savunmuştur. Chan ve arkadaşları da minimal akciğer tüberkülozunda Ag5 ile yapılan serolojik tanıda sensitivitenin düşük olduğunu rapor etmişlerdir.²⁴ Demkow ve arkadaşları yaptıkları çalışmada akciğer TB olgularında radyolojik olarak lezyonların yaygınlığı ile IgG antikor cevabı arasında anlamlı ilişki bulunmuşlardır.²⁵ Yorgancıoğlu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada; radyolojik lezyon yaygınlığına göre aktif grupta "moderate" ve "far advanced" gruplar arasında anlamlı IgG farklılığı bulunmamıştır.²³

Serolojik çalışmalarda önemli sorunlardan biri de yalancı pozitif reaksiyondur. Çalışmamızda 0,9 cut-off değeri alındığında tek bir yalancı pozitiflik bulunurken, 0,632 alındığında toplam 8 olguda yalancı pozitiflik saptadık. Bu olgular incelendiğinde aktif akciğer TB'ü bulgularına rastlanmadı. İnsanlar devamlı olarak çevresel mikobakterilerle temas halindedirler. Bu da düşük seviyede de olsa bir immüno sensitizasyon oluşturur. Bu olguların sıklığı ve dolaşan antikorların düzeyi endemi bölgelerinde artar. Kullanılan mikobakteriel antijenlerin birçok epitop içermeleri nedeni ile çevresel maruziyete uğranılan mikobakteri vb. bazı mikroorganizmalarla çapraz reaksiyonlar oluşturduğu ve testin spesifitesinde azalmaya neden olduğu bildi-

rilmektedir. Maes sağlıklı kişilerde görülen seropozitifliği tüberkülozlarla temasa bağlamıştır.²⁶

Yalancı negatif reaksiyonların sebebi arasında en çok üzerinde durulan, immünkomplekslerin oluşumudur. Yaygın tüberküloz olgularında, basil yükünün fazla olması nedeni ile, mikobakteriyel antijenlerin salınımı; immünkompleks oluşumuna yol açabilir, oluşan immünkompleksler serumda spesifik antikor azalmasına neden olurlar.

Çalışmamızın amaçlarından biri de, PPD testi ile antikor cevabı arasındaki ilişkiyi saptamaktır. PPD pozitif olgularımızın ortalama IgG düzeyi 1.065 ± 1.06 idi ve PPD negatiflerin, ortalama IgG düzeyinden (0.587 ± 0.659) anlamlı olarak yüksekti. ($p= 0.0003$). Sonuçlarımız Kardjito ve ark. in sonuçları ile uyumlu idi.²⁷

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)'nün önerilerine göre; altın standart olan bakteriyolojik kültürün yerine kullanılacak bir serolojik testin duyarlılığının en az % 80, özgüllüğünün ise bunun üzerinde olması gerekmektedir (DSÖ 1997). Bu kriterler dikkate alındığında, kullanımda olan serolojik testlerin TB'un standart tanısında kullanılan yöntemlerin yerini alması mümkün değildir.

SONUÇ

Çalışmamızın sonuçlarına göre, ARB (-) veya balgam çıkaramayan olgularda; daha ileri invaziv işleme gereksinim duyulmadan, 38 kDa antijen ile uygulanan ELISA testi ile IgG ölçümünün kolay uygulanabilir ve ucuz olması da göz önünde bulundurularak yüksek spesifite ile yardımcı tanı aracı olarak kullanılabilirliği görülmüştür.

Ayrıca bu konuda literatürde en geniş olgu sayısına sahip çalışmalardan biri olması nedeni ile bu çalışmanın; klinik pratikte serumda IgG ölçümünün uygulanmasına kayda değer bir katkı sağlayabileceği düşünülmüştür.

KAYNAKLAR

1. Global tuberculosis Global Tuberculosis Control World Health Organization WHO Report 2010:Geneve
2. Drowart A, Huygen K, De Bruyn J. Antibody levels to whole culture filtrate antigens and to purified p32 during treatment or smear positive tuberculosis. *Chest* 1991;100:685-687
3. Roya AN, Maliheh M, Ebrahim A, Hassan M. Patho-TB test for the rapid diagnosis of pulmonary tuberculosis. *JRMJ* 2009; 14:301-307
4. Chiang IH, Suo J, Bai KJ, Lin TP, Luh KT, Yu CJ et al. Serodiagnosis of tuberculosis: A study comparing three specific mycobacterial antigens. *Am J Resir Crit Care Med* 1997;156: 906-11
5. Bothamley GH. Serological diagnosis of tuberculosis. *Eur Respir J(Suppl)*1995; 20:676 688
6. Gennaro ML. Immunolojic diagnosis of tuberculosis. *Clin Infect Dis* 2000; 30: 243-46
7. Hendrickson RC, Douglass JF, Reynolds LD, McNeill PD, Carter D. Mass spectrometric identification of mtb81, a novel serolojical marker for tuberculosis. *J Clin Microbiol* 2000; 38:2354-61
8. Mısırlıgil Z. Tüberküloz İmmünolojisi. Kocabaş A (ed). Tüberküloz kliniği ve kontrolü. Adana: Çukurova Üniv. Basımevi; 1991. p.73-5
9. Apan TZ, Aksoy A, Kuyumcu G, Çanga Ö, Kocamaz H, Özari M. Klinik ve Radyolojik Olarak Tüberküloz Ön Tanısı Konulan Hastalarda Direkt Mikroskopi ve Kültür Yöntemlerinin ELISA Sonuçları İle Kıyaslanması. *İnfeksiyon Dergisi (Turkish Journal of Infection)* 2004;18:433-439
10. Xueqiong W, Yourong Y, Zhang J, Bangying L, Yan L, Chuiying Z. Humoral Immune Responses against the Mycobacterium tuberculosis 38-kilodalton, MTB48, and CFP-10/ESAT-6 Antigens in Tuberculosis. *Clinical and Vaccine Immunology Mach* 2010; 17:372-375
11. Öztürk R. Tüberküloz Tanımı ve Bu Alandaki Yenilikler. *Türkiye Hastane Tıp Derg* 1998; 52:67-68
12. Omega Diagnostics Limited." TB or not TB " Omega Diagnostics, Product Insert. Review 1994; 63:2-10
13. Karen RS, Megan H, Suman L, Philip CH, Andrew R. Commercial Serological Antibody Detection Tests for the Diagnosis of Pulmonary Tuberculosis. A Systematic Review. *PLOS Med* 2007; 4:202
14. Zeiss CR, Kalish SB, Erlich KS. IgG antibody to purified protein derivat by enzyme-linked immunosorbent assay in the diagnosis of pulmoner tuberculosis. *Am Rev Respir Dis* 1984; 130:845
15. Muz M H, Turgut T, Devenci T, Öz O. Tübekülöz tanısında A 60 Antijeninin yeri. *Solumun* 2002; 4:386-390
16. Daniel TM. ELISA Using mycobacterium tuberculosis. Antigen 5 and PPD for the serodiagnosis of Tuberculosis. *Chest* 1988; 3:292-368
17. Verbon A, Wevertign GJ, Kujper S, Speelman P, Jansen H.M, Kokla A.H.S. Evaluation of different tests for the serodiagnosis of tuberculosis and the use of likelihood rations in serology. *Am Rev Respir Dis* 1993; 148:378-84
18. Balestriono EA, Daniel TM. Serodiagnosis of pulmonary tuberculosis in Argentina by ELISA of IgG WHO 1984
19. Grubek JH, Zwolska Z. Serum and bronkoalveolar IgG against AGÖ and 38 kDa antigens in the diagnosis of tuberculosis. *Int. J. Tuberc. Lung. Dis.* 1997; 1:556-62
20. Ji Sook Lee , Jo EK, Noh YK, Shin AR, Shin DM, Son JW et al. Diagnosis of pulmonary tuberculosis using MTB12 and 38-kDa antigens. *Respirology* 2008; 13:432-437
21. Imaz MS, Schmelling MF, Kaempfer S, Spallek R and Singh M. Evaluation of Commercial Enzyme-Linked Immunosorbent Assay Kits for Detection of Tuberculosis in Argentinean Population. *J Clin Microbiol .* 2004; 884-88
22. Brian A, Danial TM, Evaluation of the Potential Role of Serodiagnosis of tuberculosis in a clinic in Bolivia by Decision Analysis. *Am Rev Respir Dis* 1991; 143:713-16
23. Yorgancioğlu A, Kılınç Ö, Kalenci D. Tüberküloz Aktivitesinde Nonspesifik İmmunglobulinlerin Değeri. *İzmir Göğüs Hastanesi Dergisi* 1995; 1:21-25
24. Chan SL, Reggiardo Z, Daniel TM, Girling DJ, Mitchison DA. Serodiagnosis of tuberculosis using an ELISA with antigen 56 and a hemagglutination assay with glycolipid antigens. Results in patients with newly diagnosed pulmonary tuberculosis ranging in extent of disease from minimal to extensive. *Am Rev Respir Dis* 1991; 125:720-23
25. Demkow U, Filewska M, Michalowska-Mitczuk D, Kus J, Jagodzinski J, Zielonka T et al. Heterogeneity of Antibody Response to Mycobacterial Antigens in Different Clinical Manifestations of Pulmonary Tuberculosis. *Journal of Physiology and Pharmacology* 2007; 58: (Suppl) 5,117-127
26. Maes R, Hamosson JP .Development of an Enzyme Immunoassay for the Serodiagnostik of Tuberculosis and Mycobacteriores. *Med Microbiol Immunol* 1989; 178:323-35
27. Kardijito T. Diagnosis of Active Tuberculosis by Immunological methods. The Effect of Tuberculin Reactivity and Previous BCG Vaccination on the Antibody Levels. *ELISA, Tubercle* 1982; 63:69-74
28. Ivanys J, Krambouvitis E. Evaluation of a monoclonal antibody (TB72) based serological test for tuberculosis. *Clin Exp Immunol* 1983;54:337-45
29. Ahmad A, Afghani S, Raykundalia C, Catty D. Diagnosis of tuberculosis by using ELISA to detect 38kDa Mycobacterial antigen in the patients. *Journal of Islamic Academy of Sciences* 1995; 8:7-13
30. Pottumarthy S, Wella VC, Morris AJ. A Comparison of seven tests for serolojical diagnosis of tuberculosis. *J Clin Microbiol* 2000; 38:2227-31
31. Demkow U, Zielonko TM, Nowak-Misiak M, Filewska M, Bialas B, Strzalkowski J et al. Humoral immune response against 38-kDa mycobacterial antigens in bone and joint tuberculosis. *Int J Tuber Lung Dis* 2002; 6:1023-8
32. Bhatia AS, Kumar S, Harinath B.C. Immunodiagnosis of tuberculosis: an uptade Indian Journal of Clinical Bio Chemistry 2003; 18:1-5
33. Julian E, Mates L, Alcaide J, Luquin M. Comparison of antibody response to a potential combination of specific glycolipids and proteins for test sensitivity improvement in tuberculosis serodiagnosis. *Clin Diagn Lab Immunol* 2004; 11:70-76
- Araujo Z, Waard JH, Larrea CF, Lopez D,

34. Fandino C, Maldonado A et al. Study of the Antibody Response against Mycobacterium tuberculosis Antigens in Warao Amerindian Children in Venezuela. Mem Inst Oswaldo Cruz 2004; 99:517-524
35. Butt T, Malik HS, Abbasi SA, Ahmed RN, Mahmood A, Karamat KA et al. Genus and species-specific IgG and IgM antibodies for pulmonary tuberculosis. J Coll Physicians Jurg Pak 2004; 14:105-7
36. Şenol G, Erer O.F, Y.A.Yalçın, M.Coşkun, A.T.Gündüz, C.Bıçmen et al. Humoral immune response against 38-kDa and 16-kDa mycobacterial antigens in tuberculosis. Eur. Respir J 2007; 29: 143-148
37. de Waard Jacobus H. Evaluacione dos pruebas comerciales para el serodiagnosics de la tuberculosis pulmonar. Rev Chil Infect 2008; 25:37-40
38. Öz T, Çavuşoğlu C, Yangın E, Aydoğan Ö, Korkmaz M, Bacakoğlu F ve ark. Akciğer Tüberkülozunda Mycobacterium tuberculosis antijen fraksiyonlarına karşı serolojik yanıtın western blot yöntemiyle değerlendirilmesi. Ege Tıp dergisi(Ege Journal of Medicine) 2009; 48: 153-158
39. Ben Selma W, Harizi H, Marzouk M, Ben Kahla, F Ben Lazreg, A Ferjeni et al. Rapid detection of immunoglobulin G against Mycobacterium tuberculosis antigens by two commercial ELISA kits. Int J Tubec Lung Dis 2010; 14: 841-6