

## Mikobakteri infeksiyonlarının serolojik tanısı : antijen 60 (A60)'ın özellikleri ve klinik kullanımı

Dr. İ. Halil ÖZEROL\*, Dr. Mustafa ŞENOL\*\*

*Son zamanlarda insidansındaki artış eğilimi ile dikkatleri yeniden üzerine çeken tüberkülozun erken ve doğru tanısı önemli bir husustur. Bu nedenle, klasik tanı yöntemlerinin dışında, spesifik, hızlı, pratik ve güvenilir yeni tanı yöntemleri üzerinde çalışılmaktadır.*

*İmmünolojideki gelişmeler bu konuda önemli ilerlemeler sağlamıştır. Mikobakterilerin çeşitli komponentlerinden elde edilen çeşitli antijenler kullanılarak, bunlara karşı oluşan hücresel ve humoral immün cevaplar tespit edilmekte, bunların klinik bulgularla birlikte değerlendirilmesi suretiyle hızlı ve doğru tanı koyma imkanları artırılmaktadır.*

*Bu derlemede, tüberkülozda oluşan humoral immünite değişiklikleri ve bunların tanı amacıyla kullanılması üzerinde durulmakta, bu konudaki son gelişmeler gözden geçirilmektedir. [Turgut Özal Tıp Merkezi Dergisi 1(4):324-333,1994]*

**Anahtar Kelimeler:** Mikobakteri infeksiyonları, antijen 60, tüberküloz, seroloji

### ***Serologic diagnosis of mycobacterial infections : antigen 60, properties and clinical using***

*The conventional methods for the laboratory diagnosis of tuberculosis and other mycobacterial diseases are time consuming and beyond the scope of most of the small and medium-sized hospital facilities. Therefore, there has been considerable interest in the development of a serological method for the detection of antibodies against mycobacteria.*

*The humoral immune response occurring during mycobacterial infections can be detected with some serological tests (R.I.A., ELISA, latex agglutination, etc).*

*In this paper, humoral immunity changes in tuberculosis and serological diagnostic procedures are reviewed. [Journal of Turgut Özal Medical Center 1(4):324-333,1994]*

**Key Words:** Mycobacterial infections, antigen 60, tuberculosis, serology

Dünyada yaklaşık 1.7 milyar tüberkülozlu hasta olduğu, her yıl 8-10 milyon yeni vaka ortaya çıktığı ve yılda 3 milyon ölüm meydana geldiği tahmin edilmektedir<sup>1,2</sup>. Son yıllarda; evsizlik, yetersiz beslenme, drog-alkol bağımlılığı, mahkum ve AIDS'li hasta sayısının artmakta olması gibi çeşitli faktörler nedeniyle mikobakteriyel hastalıklarda (Tablo 1) dramatik bir artış gözlenmektedir. Bu kişilerde hastalığı eradike etmek çok zordur. Bunların, hastalığı yakınları dahil diğer sağlıklı kişilere yaymaları önemli bir halk sağlığı problemidir. Uygun tedavi yapılmazsa *M.tuberculosis* uzun yıllar infeksiyöz özelliğini koruyabilir.

Mikobakteriyel infeksiyonlar, konağın savunma sistemi ile bakteriyel komponentler arasında multipl etkileşimlere neden olur. Humoral ve hücresel immün reaksiyonlara yol açarlar. Geç aşırı duyarlılık şeklindeki cevaplar tüberkülin testiyle değerlendirilir. Lenfositler antitüberküloz immünitede anahtar rol oynar. Antijenin işlenmesi, antijen sunan hücreler tarafından helper T lenfositlerinin stimülasyonu, fagositleri aktivasyona sevkeden lenfokinlerin üretilmesi ve intrasellüler bakteriyel proliferasyonun duraklaması kompleks olaylardır<sup>1,8</sup>. Basillerin vücuda girişinden sonraki 3-6 hafta içinde hastanın sellüler immünitesi aktivite

\* : İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı - Malatya

\*\* : İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dermatoloji Anabilim Dalı - Malatya

## Özerol ve ark.

### Mikobakteri enfeksiyonlarının serolojik tanısı : antijen 60 (A60)'ın özellikleri ve klinik kullanımı

kazanır ve mikobakteri replikasyonu duraklar. Ancak *M.tuberculosis* ile karşılaşan kişilerin yaklaşık % 5'inde 2 yıl içinde aktif hastalık gelişir. Diğer % 5-10'unda daha sonraki yıllarda hastalık ortaya çıkabilir<sup>1</sup>.

Tablo 1. Mikobakteriyel klinik sendromlar<sup>3-6</sup>

|  |
|--|
| <i>M.tuberculosis</i>  |
| - Pulmoner tüberküloz  |
| - Ekstrapulmoner tüberküloz  |
| - HIV ile infekte hastalarda tüberküloz  |
| <i>M.avium-intracellulare</i>  |
| - Asemptomatik kolonizasyon  |
| - Pulmoner hastalık  |
| - HIV ile infekte kişilerde dissemine tüberküloz   |
| <i>M.leprae</i>  |
| - Tüberküloid lepra  |
| - Borderlayn lepra   |
| - Lepromatöz lepra   |
| Diğer mikobakteriler   |
| - Pulmoner hastalıklar (örn. <i>M.kansasii</i> )   |
| - Deri hastalıkları (örn. <i>M.marinum</i> , <i>M.ulcerans</i> , <i>M.fortuitum-chelonae</i> ) |

Mikobakterilere karşı konak savunmasında humoral immünite sekonder rol oynamasına rağmen antimikobakteriyel antikor seviyesinin ölçümü, tüberküloz tablosunun değerlendirilmesinde önemli bilgiler sağlar. İmmün sistem hastalığı olmadan, tüberkülin pozitifliği devam ederken feedback düzenleyici mekanizmaların kontrolü altında antikor titreleri dalgalanmalar gösterir. Mikobakteriyel hastalıklarda humoral immün cevabın diyagnostik yararı ve tüberkülozda ortaya çıkan immün spektrum ile lepradaki, benzerlik gösterir<sup>9-11</sup>.

Tüberküloz tanısı, özellikle erken devrelerde, zordur. Hastalığın klinik belirtileri nonspesifiktir. Gelişmiş ülkelerde klinik olarak şüpheli olan hastalarda çekilen röntgen filmlerinde % 30 oranında atipik bulgularla karşılaşmaktadır. Gelişmekte olan ülkelerde balgam yaymaları ve kültürlerin % 30-50 arasında negatif olduğu tahmin edilmektedir. Kavite oluşuncaya kadar balgam kültürleri negatif kalır<sup>2,3</sup>.

Hastarda tüberküloz belirtileri varsa, balgam kültürünün sonucu beklenmeden tedaviye başlanmaktadır. Bu yaklaşım spesifik tedavinin başlatılmasında 6-8 haftalık bir gecikmeyi önler ancak hatalara da neden olur. Bu nedenle aktif tüberküloz tanısını en kısa zamanda koyacak serolojik yöntemlerin büyük klinik önemi vardır. Mikobakterilerin hücre duvarı bileşenleri ve sitoplazmasının hapten, immünojen ve immün-modülatör özellikleri vardır. Aktif mikobakteriyel hastalıkların teşhisi amacıyla radioimmunoassay (RIA), enzyime-linked immunosorbent assay (ELISA)

ve lateks aglütinasyon gibi birçok serolojik test geliştirilmiştir<sup>12-16</sup>. Bu testlerde sonik vibrasyona tabi tutulan mikobakterilerden elde edilen glikolipid ve protein yapısındaki mikobakteriyel antijenler (antijen 5, 6 ve 7, saflaştırılmış glikolipidler, *M.tuberculosis*'ten elde edilen kompleks antijen ve *Basillus Calmette-Guërin*) reagen olarak kullanılmaktadır<sup>17-20</sup>. Mikobakteriyel genlerin klonlanması ile 16, 18, 32, 38 ve 64 kilodalton antijenler üretilmiş, bunlar ELISA testinde kullanılmıştır. Ancak yanlış pozitiflik oranları çok yüksektir. Örneğin *M.bovis*'in 64 kilodalton proteinlerine dayanan bir immünoassay, mikroplar aleminde bu ısı-şok proteininin geniş dağılımına bağlı olarak, kontrollerin yaklaşık 1/3 ünde pozitif reaksiyon vermiştir<sup>21</sup>. Klinik olarak yararlı immünolojik testlerin geliştirilmesinde en büyük problem, spesifik mikobakteriyel bileşenlerin büyük miktarda saflaştırılmış halde bulunmamasıdır. Yani günümüzde pratikte kullanılan sınırlı birkaç antijen vardır. PPD deri testi, saflaştırılmış protein derivatives antijenlere karşı oluşan IgG tipi antikorların aktivitesini değerlendirme esasına dayanır<sup>22</sup>. *Mycobacterium tuberculosis*'ten elde edilen antijen 5 (A5) klinikte kullanılan esas protein bileşendir. Antijen 5 kullanılan ELISA sistemleri PPD'ye üstündür<sup>23</sup>. Ancak bu antijen hücre içinde lokalize olduğundan elde edilmesi güçtür ve çok miktarda elde edilemez. Bu nedenle günümüzdeki çalışmalar antijen 60 (A60) üzerinde yoğunlaşmıştır. A60'ın elde edilme işlemleri kolaydır ve bol miktarda saf halde elde edilebilmektedir.

### BCG'den elde edilen antijen 60 (A60)'ın özellikleri

Antijen 60 kompleksi, tüberküloz basilleri ve atipik mikobakterilerin "cytosol"lerinde bulunan, türler arasında ortak bir antijendir. Mikobakteriyel enfeksiyonlar sırasında (tüberküloz, lepra vs) kendisiyle reaksiyon veren antikorlar oluşur. Leishmaniasis ve Nocardiosis sırasında ortaya çıkan antikorlar ile de reaksiyon verir<sup>24,25</sup>. A60, *M.bovis*'in sitoplazmasından elde edilen proteinlerin iki boyutlu immünoelektroforezle ayrıştırılması sırasında ortaya çıkan daha az mobil bir polimerdir. A60, old tüberkülin (OT) ve tüberkülinin saflaştırılmış protein derivatives (PPD-RT23)'nin esas termostabil bileşendir<sup>26,27</sup>. *M.leprae*'den elde edilen antijen 7 (A7) ile A60 homologdur. *Corynebacterium*, *Mycobacterium* ve *Nocardia* cinsi mikroorganizmalardan elde edilen major polimerler (termostabil makromoleküler antijenler, TMA) ailesine aittir<sup>28-30</sup>.

## Özerol ve ark.

*Mikobakteri infeksiyonlarının serolojik tanısı : antijen 60 (A60)'ın özellikleri ve klinik kullanımı*

Günümüzde A60 antijenini saflaştırma işlemleri bilinmekte ve büyük miktarlarda elde edilebilmektedir. Bu antijen kompleksinde proteinler, polisakaritler ve (hem serbest hem de bağlı) lipidler bulunmaktadır. Günümüzde tek bir polipeptid komponentinin saflaştırılması üzerinde çalışılmaktadır. Ribozomlarla birlikte A60'ın sedimentasyonu yapılabilirse, aşılama deneyleri ve taksonomik çalışmalar için "ribozomal sediment" kullanılması gündeme gelecektir. İntrasellüler olarak eksponansiyel (hızlı üreme dönemindeki) hücrelerde lokalize olan A60, stasyoner (duraklama) fazdaki bakterilerden salınır. Bu özellik old tüberkülin hazırlanma mekanizmasını açıklar.

Mikobakteriyel homojenatlar enjekte edilen farelerde olduğu gibi tüberkülozlu hastalarda da anti-A60 antikorların ortaya çıkması, A60'ın belirgin immünolojik rolü olduğunu düşündüren bir bulgudur. İlk zamanlarda I<sup>125</sup> ile işaretlenen A60'ın kullanıldığı bir immünoassay ve A proteinli bakterilerle antikor-antijen komplekslerinin sedimentasyonu üzerinde çalışılmıştır. Daha sonraki yıllarda bir immünoenzimometrik yöntem olan ELISA geliştirilmiştir. Bu yöntemde fare serumunun A60 ile kaplı multi-kuyucuklu titrasyon plaklarına konulmasını takiben peroksidazla işaretli anti-mouse tavşan immünglobulinleri eklenir, bağlanan enzim aktivitesi spektrofotometrik olarak okunur. Bu immünoassay kullanılarak, A60 verilen farede anti-A60 Ig sentezini izlemek mümkün olmuş, primer ve sekonder cevaplar gözlemlenmiştir<sup>29</sup>.

OT ve PPD'de A60'ın mevcut olmasından hareketle, A60 verilen farede geç aşırı duyarlılık reaksiyonlarının izlenmesi amaçlanmış, fare ayak tabanına A60 enjekte edildikten sonra tipik cevaplar elde edilmiştir. Bu etki sekonder injeksiyondan sonra daha belirgindir ve inkomplet adjuvanla kuvvetlenir. Bu nedenle, A60'ın hem humoral hem de hücrel immün cevapları artırma yeteneği vardır<sup>29</sup>.

### Serolojik verilerin yorumu

Serolojik prosedürlerin klinik değerini gösteren 3 gösterge vardır: sensitivite, spesifite ve pozitif prediktif değer. Serolojik olarak doğru idantifiye edilen hastaların oranına sensitivite, serolojik olarak negatif olan normal kişilerin yüzdesine spesifite ve serolojik olarak pozitif vakalar arasındaki tüberkülozlu bireylerin sayısına ise pozitif prediktif değer adı verilir (Tablo II).

Baelden ve ark.'nın çalışmalarından elde edilen sonuçlara göre anti-A60 IgG için bu değerler sırasıyla % 78, % 86 ve % 49'dur<sup>32</sup>. Charpin ve

Tablo II. Serolojik göstergeler

$$\begin{aligned} \text{Sensitivite} &= \frac{\text{hakiki pozitif}}{\text{hakiki pozitif} + \text{yanlış negatif}} \\ \text{Spesifite} &= \frac{\text{hakiki negatif}}{\text{hakiki negatif} + \text{yanlış pozitif}} \\ \text{Pozitif prediktif değer} &= \frac{\text{hakiki pozitif}}{\text{hakiki pozitif} + \text{yanlış pozitif}} \end{aligned}$$

ark. ise bu değerleri IgG için % 48, % 71 ve % 50; IgM için % 76, % 98 ve % 95; IgG ve IgM kombinasyonunda ise: % 68, % 100 ve % 100 olarak bulmuşlardır<sup>31</sup>. Antijen 5 ELISA sisteminde sensitivite % 48.8-89.0 ve spesifite % 91.8-100'dür<sup>26</sup>. Farklı glikolipid bazlı ELISA çalışmalarında sensitivite % 52.7-91.3 ve spesifite % 97.8-100 olarak bildirilmiştir<sup>17,33</sup>.

Serolojik analiz için seçilen cut-off sınırı, bahsedilen serolojik göstergelerin değerlendirilmesi için önemli bir faktördür. Gevaudan ve ark.'nın yayınlarında cut-off olarak 150, 200 ve 300 serounitler kullanılmış ve testin global sensitivite değerleri sırasıyla % 99.5, % 98.7 ve % 81.7; bunlara uyan spesifite değerleri ise % 61.4, % 86.7 ve % 100 olarak bulunmuştur. 200 serounit baz olarak alındığında, hastalar için % 100 sensitivite ve % 85 spesifite, sağlıklı bireyler için ise, % 94 değerinde sensitivite ve % 64 değerinde spesifite elde edilmiştir<sup>24</sup>. Daha düşük (100 serounit) seviyeyi baz alan Baelden ve ark., sensitiviteyi % 78 ve spesifiteyi % 86 olarak bulmuşlardır<sup>32</sup>. Yayınlanan verilerin analizine göre serolojik testler için cut-off sınırları çalışmalara göre değişmektedir. Genellikle Tablo III'te gösterilen cut-off değerleri kabul edilmektedir<sup>33</sup>. İmmünolojik durumu bozuk hastalarda mutad olandan daha düşük cut-off değerleri ile serolojik ölçümler yapılmalıdır. Bu hastalarda mikobakteriyel infeksiyonun başlangıcını tesbit etmek bakımından IgG'den ziyade IgM'ler yararlıdır.

Bilindiği gibi, tüberküloz tanısında kullanılan serolojik testler, bir toplumun veya bir bireyin humoral immün durumunu değerlendirir. Antijen tesbitine katkısı yoktur. Bu testler bir toplum veya hastanın hücrel immün durumunu değerlendiren deri testlerine benzer. Antijenle karşılaşmadan sonra deri reaksiyonları uzun süre pozitif kalır, humoral immünite ise devam etmez. Antijenik uyarıya uygun olarak antikor üretimi dalgalanmalar gösterir. Serolojik testlerin deri testlerinden ikinci farkı 3 antikor tipinin sentezlenip sentezlenmediğini incelemeyi mümkün kılmasıdır. Tüberkülin testine

## Özerol ve ark.

Mikobakteri infeksiyonlarının serolojik tanısı : antijen 60 (A60)'ın özellikleri ve klinik kullanımı

Tablo III. ELISA testlerinde kabul edilen anti-A60 antikor cut-off değerleri

|         | IgM                     |               | IgA                          | IgG     |
|---------|-------------------------|---------------|------------------------------|---------|
|         | Absorbans               | Normal değeri | Serönit                      | Serönit |
| Negatif | < %0.20 pozitif kontrol | < 0.8         | < 200                        | < 125   |
| Şüpheli | > %0.20 pozitif kontrol | 0.8-1.0       | neg: 201-300<br>poz: 301-350 | 125-225 |
| Pozitif | > pozitif kontrol       |               | > 350                        | > 225   |

göre serolojik testler daha basittir ve tıbbi laboratuvarlarda kolayca uygulanabilir. Serolojik reaksiyonlarda elde edilen veriler bölgeden bölgeye farklıdır. Bu farklılığın açıklaması; atipik mikobakterilerin tüberküloz basillerindeki antijenler ile kros reaksiyon veren sessiz infeksiyonlara neden olması olabilir. Her vaka lokal kontrol değerlerine göre ele alınmalı ve tüberkülinde olduğu gibi, o bölgedeki serolojik durumdan hekim haberdar olmalıdır. Serolojik testlerin yorumu zor olmasına rağmen diğer metotlarla elde edilemeyecek değerli bilgiler verir<sup>9,10,12,14,16,17,32</sup>

İncelenen verilere göre mikobakteriyel proliferasyonu takiben ya primer infeksiyon, ya da reinfeksiyon ortaya çıkar ve anti-A60 Ig'ler oluşur. İnfeksiyöz proses tedavi ile kontrol altına alınınca Ig'ler muhtemelen bazal seviyelere düşer. Özellikle dikkat edilmesi gereken husus tüm BCG aşılı tüberkülin pozitif sağlıklı bireylerde A60 ELISA değerlerinin negatif oluşudur. İnfeksiyon ilerledikçe vakaların büyük çoğunluğunda anti-A60 Ig üretimi tesbit edilir. Charpin ve ark., kronik vakalarda % 94 veya üstünde anti-A60 Ig üretimi tesbit etmişlerdir<sup>31</sup>. İnfeksiyondan sonra Ig titrelerindeki artış ve tedaviden sonraki azalma IgG'den ziyade IgM'de izlenir. Primer tüberkülozun reaktivasyonundan sonra veya reinfeksiyondan sonra tesbit edilen anti-A60 IgM ve IgG seviyeleri, primer tüberkülozdan daha yüksektir ve daha uzun süre yüksek kalır. Sonuç olarak, tüberkülozda sentezlenen Ig'lerin kinetiği; A60 dahil, saf antijenlerin inoküle edilmesiyle oluşan primer ve sekonder cevaplara benzer

Şimdiye dek yapılan çalışmalarda tüberküloz tanısında ELISA'ya güvenilip güvenilemeyeceğini belirleyen 2 faktör dikkate alınmamıştır. Bunlardan birincisi hastanın tüberküloz anamnezi olup olmadığı, ikincisi ise balgam yaymalarının pozitif olup olmadığıdır. ELISA test sonuçlarının yorumlanabilmesi için bu faktörlerin bilinmesi gerekir. Balgam yaymaları negatif olan vakalarda yapılan testlerin güvenilirliği büyük önem taşır.

Tüberküloz tanısı amacıyla, Zeiss ve ark. PPD, ELISA ve yayma yöntemlerinin birlikte kullanılması halinde testlerin sensitivite ve spesifikliğini

araştırmışlardır. Bu araştırmacılar PPD ve ELISA testlerinin birlikte kullanılması halinde sensitivite ve spesifikliğı sırasıyla % 57 ve % 99, ELISA testi ile birlikte ilk ARB boyamada ise % 86'lık sensitivite elde etmişlerdir<sup>9</sup>.

## I. SAĞLIKLI KİŞİLERDE SEROLOJİ

Mikobakterilerle karşılaşan sağlıklı kişilerde serolojik testler pozitifleşmekte ve aşağıdaki sonuçlar tespit edilmektedir.

a) IgM: Kısa sürede, yoğun miktarda mikobakteriyel antijenlerle karşılaşan kişilerde yüksek sıklıkta, spesifik IgM'ler belirir. Örneğin, kreşlerde ve aynı barakalarda yatan askerlerde mikobakterilerle kontakt sonunda % 80 üzerinde IgM pozitifliği tesbit edilir. Bu IgM seropozitifliğine immünolojik bakımdan kompetan erişkinlerde de rastlanır. Kendiliğinden azalır ve bu nedenle önemsizdir.

b) IgA: İmmünolojik açıdan kompetan erişkinlerde IgA seropozitifliği frekansı, IgM'e göre çok daha düşüktür. Tüberküloz odakları ile daha sık kontaktı gösterir. Örn. üçüncü dünya ülkelerine seyahat eden havaalanı personeline sık görülür.

c) IgG: Sağlıklı kişilerde BCG'deki antijen 60'a spesifik IgG tipi antikorlara nadiren rastlanır. İntradermal reaksiyonları pozitif olan veya endemik bölgelerde yaşayan sağlıklı kişilerde de IgG negatiftir. Tüberkülozlu hastalarda antijenle karşılaşma sonunda IgG antikorları ortaya çıkar. Birçok aktif tüberküloz vakalarında IgG antikorları pozitifdir. Sağlıklı kişilerde booster aşılama sonunda da pozitiflik görülür. İncelenen 940 kişiden % 4'ünde, 400 serönit veya altında, zayıf IgG pozitifliği görülmüştür. Bu seropozitiflik, tüberküloz odağı ile sık kontakt sonucu oluşan immün reaksiyonu gösterir. Mikobakteri laboratuvarında çalışan kişilerde, göğüs hekimlerinde, mahkumlarda, bazı polislerde ve süpermarket kasiyerlerinde görülür. Tespit edilen diğer IgG seropozitifliği sonuçları Tablo IV'te gösterilmiştir.

## II. TÜBERKÜLOZ DIŞINDAKİ HASTALIKLARDA SEROLOJİ

Antijen 60 (A60) seropozitifliği aslında pulmoner

## Özerol ve ark.

*Mikobakteri infeksiyonlarının serolojik tanısı : antijen 60 (A60)'ın özellikleri ve klinik kullanımı*

orijinli bazı hastalıklara özgüdür. Bunlar; sarkoidoz, kistik fibroz, kanser, pnömopatiler ve AIDS'dir. Bu pozitiflik mikobakteriyel kolonizasyonu gösterir. Sağlıklı popülasyonda olduğu gibi genellikle herhangi bir gen sırası bulunmaz. Bazı şartlarda patolojik yönde ilerleyebilir. Kolonizasyondan infeksiyona ilerleme AIDS'li hastalarda ve sarkoidozlu erişkin hastalarda sık görülür<sup>4,34,35</sup>.

Tablo IV. Çeşitli gruplarda IgG seropozitifliği<sup>1,13,16</sup>

| Hastalar                                   | IgG seropozitiflik yüzdesi |
|--|----------------------------|
| (>bir yıl) HIV seropozitif hastalar        | 28 (9/32)                  |
| AIDS'li hastalar                           | 25 (8/32)                  |
| (<1 yıl) HIV pozitif olan drog bağımlıları | 35 (7/20)                  |
| HIV seronegatif drog bağımlıları           | 53 (8/15)                  |
| HIV seronegatif, kronik viral hastalıklar  | 0 (0/15)                   |
| Sağlıklı popülasyon                        | 4 (39/940)                 |

### III. MİKOBAKTERİYEL HASTALIKLARDA SEROLOJİ

**A) IgM: 1. Tüberküloz menenjit:** Klinik semptomlar infeksiyon ihtimalini düşündürüyorsa, tesbit edilen IgM pozitif seroloji, bu semptomların hızlı konfirmasyonunu sağlar. Bu vakalarda ayırıcı tanının acilen yapılması gereklidir. Çünkü tüberküloz menenjitten iyileşme erken terapötik girişime bağlıdır, fakat beyin omurilik sıvısında mikobakterilerin az bulunması ve uzun jenerasyon zamanı olması erken tanıyı güçleştirmektedir. Bu problemi çözmek için, A60-bazlı immünoelaz tekniği geliştirilmiştir. Buna göre, BOS örnekleri agaroz jel plakları üzerinde izoelektrik fokuslama ile fraksiyone edilir. Daha sonra A60 yüklenmiş nitrosellüloz tabakalarına transfer edilir. Biotinlenmiş anti-human IgG ile reaksiyondan sonra streptavidin-biotin metodu kullanılarak antijen-antikor kompleksleri tesbit edilir. Bu metodla tüberküloz menenjitli hastaların BOS'unda antimikobakteriyel immünglobulinlerin erken tesbiti sağlanır. A60 ve total hücre antijenleri ile elde edilen yapıların benzerliği; antimikobakteriyel antikorların gerçekte A60'a karşı olduğunu göstermiştir. Tüberküloz menenjit, sefaloaraşidiyen sıvıda antikor oluşumunu provoke eder. Aynı hastadan elde edilen serum ve BOS immünoelazlarının karşılaştırılması ile antimikobakteriyel IgG'nin intratekal olarak sentezlendiğine dair deliller sağlanmıştır (diğer fizyolojik şartlarda immünglobulinler kandan BOS'a geçer). BOS'taki antimikobakteriyel IgG titreleri A60 ELISA kullanılarak tayin edilebilir<sup>36,37</sup>. Testin duyarlılığını artırmak amacıyla BOS 1/20 dilüe edilerek incelenmelidir<sup>36,37</sup>.

**2. Atipik tüberküloz ve mikobakteriozlar:** Normal olarak, mikobakteriozlarda elde edilen humoral immün cevaplar tüberküloz ve leprada görülene benzer. Bu nedenle, test mikobakteriozları tespit etmek için mükemmel kolaylıklar sağlar<sup>3,6</sup>.

#### 3. Pulmoner tüberküloz:

**a. Primer infeksiyonlar:** Infeksiyonun başlangıcında IgM antikorları ortaya çıkar ve tüberküloz menenjitte olduğu gibi teşhisi doğrulamaya imkan verir<sup>9,12,38,39</sup>.

**b. Kronik infeksiyonlar:** IgG antikorlarıyla birlikte IgM antikorlarının tespit edilmesi reaktivasyon fazının başlamasının çok yakın olduğunu gösterir.

**4. Ekstra-pulmoner tüberküloz:** Ekstrapulmoner tüberkülozlu hastalarda, IgG serolojik testleri, etkilenen organa göre farklılık gösterir<sup>10</sup>. Humoral immün cevap pulmoner tüberkülozda görülene benzer. Ancak, beyin ve böbrek gibi bazı organların infeksiyonu sırasında ortaya çıkan reaksiyonlar, pulmoner infeksiyon sırasında ortaya çıkana göre daha zayıf cevap verir.

IgM antikorları, hastanın iyileşmesinden sonra 2 yıldan daha uzun süre devam edebilir.

**B) IgG:** Bariz tüberkülozlu hastalarda, bazı nontüberküloz hastalığı olan kolonizasyonlu hastalarda veya sağlıklı kişilerde sessiz infeksiyon sırasında spesifik IgG'ler sentezlenir. Kronik infeksiyonlarda rutin olarak IgG antikorlarının tayin edilmesi çok önemlidir. Terapötik işlemlerin etkinlik açısından izlenmesini sağlar. Uygun olmayan tedavi sonunda sıklıkla IgG antikor seviyeleri olduğu gibi kalır. Tedavi uygun yönde modifiye edilince tedavi sonunda IgG antikor seviyesi azalır<sup>9,28,38</sup>.

Klinik olarak iyileşmiş hastalarda düşük seviyede humoral IgG antikorlarının tespit edilmesi gizli infeksiyöz odaklar bulunduğunu gösterir. Yakınlarda reaktivasyon olacağını gösterir.

**C) IgA:** İnfeksiyon sırasında, IgA antikorlarının üretilmesi genellikle IgM antikorlarının ortaya çıkmasından sonra ve IgG antikorlarından önce ortaya çıkar. Bu çeşit sentez kinetiği normal olarak serumda gözlenir. Sekretuar fonksiyonları olan diğer vücut sıvılarında bulunması gerekli değildir.

Sağlıklı kişilerin serumunda tespit edilen IgA antikorları ile bu kişilerin infeksiyöz odaklarla kontakt sıklığı uyumluluk göstermektedir. Genellikle düşük fakat anlamlı seviyelerde IgA antikorları gözlenir. Bu antikorlar, sağlıklı kişilerde akciğer dışında diğer organların infekte olup olmadığını ekarte ettirmez.

Pulmoner tüberkülozlu hastaların serumunda IgA antikorlarının varlığının anlamı halen tamamen anlaşılamamıştır. Bazı nadir durumlarda tesbit edilen

## Özerol ve ark.

*Mikobakteri infeksiyonlarının serolojik tanısı : antijen 60 (A60) 'ın özellikleri ve klinik kullanımı*

tek antikordur. İmmün anerjide IgG ve IgM sentezi baskılanır.

Ekstrapulmoner tüberkülozlu hastalarda, 1/20 dilüsyon yapılan vücut sıvılarında (plevral sıvı, perikard sıvısı vs) IgA antikorlarının tespit edilmesi mikobakteriyel infeksiyonu gösterir. IgG ve IgM antikorlarının bahsedilen bu sıvılarda bulunması, değerli diagnostik bir delildir<sup>36,37,40</sup>.

IgA ölçümleri ; menenjit<sup>36,37</sup>, plörezi veya perikardit<sup>40</sup>, böbrek tüberkülozu (üriner infeksiyon) ve AIDS<sup>34,41</sup> vakalarının teşhisine yardım eder.

## IV. HIV VAKALARINDA SEROLOJİ

HIV ile infekte tüberkülozlu hastalarda bazı özellikler vardır. Bu hastalarda fonksiyonel CD<sub>4</sub> T lenfositlerinde progressif bir azalma vardır. Makrofajlar aktive olamaz ve mikobakteriler öldürülemez. Bu nedenle basille karşılaşmadan sonraki bir yıl içinde infekte hastaların yaklaşık % 10'unda aktif hastalık gelişir. Bu oran, HIV ile infekte olmayan hastalarda hayat boyu infeksiyon riski olan % 10 ile karşılaştırılırsa önemi daha iyi anlaşılacaktır. HIV ile infekte kişilerde hastalık genellikle diğer oportunistik infeksiyonlarla birlikte dir. Bu kişilerdeki hastalık diğer pulmoner infeksiyonlardan ayırt edilemez. Ekstrapulmoner bölgelere yayılma ihtimali iki kat daha fazladır, ve hızla ölüme götürür<sup>34,41</sup>.

HIV ile infekte kişilerde, genellikle immün sistem baskılanmıştır. Bu nedenle, Mantoux deri testinde indürasyon çapı 5 mm veya daha fazla ise pozitif olarak kabul edilmelidir. Tesbit edilebilen antikorlar IgM tipindedir, IgG az miktarda üretilir. Bu nedenle IgG araştırmalarında düşük seri dilüsyonlar yapılmalıdır. HIV pozitif hastalarda IgM seropozitifliği, tüberkülin negatif bile olsa profilaksiye başlanması gerektiğini gösterir<sup>24,34,41</sup>.

### a) Nontüberküloz hastalar:

1. Çocuklar ve HIV+ hastalarda cut-off IgG için 120'ye, IgM için 200 üniteye indirilmelidir.
2. Erişkinlerde aşağıdaki durumlarda önemsiz bir IgM pozitifliği gözlenebilir;
  - a. Tüberkülin deri testinden sonra 7-10 gün geçici IgM pozitifliği görülebilir.
  - b. Romatoid faktör varlığı pozitif sonuca sebep olabilir.
  - c. BCG ile aşılama özellikle IgM sınıfı antikor sentezini kolayca başlatabilir.
  - d. Mikobakteriyel odaklarla temas, kısa süreli IgM sınıfı antikorlar sentezlenmesine neden olur.
3. Röntgen bulgusu olmayan, semptomsuz hastalarda ELISA testi sonuçları ile deri testi

sonuçları aşağıdaki şekilde yorumlanmalıdır:

- a. IgM -, IgG -, IgA - : Deri testi pozitif ise geçmişteki bir teması gösterir, infeksiyon yoktur, tedavi için bir girişim tavsiye edilmez.
- b. IgM +, IgG -, IgA - : Deri testi ister negatif ister pozitif olsun, bu yapı kişinin yakınlarında infekte olduğunu gösterir, girişim öğütlenbilir.
- c. IgM -, IgG +, IgA +/- : Pozitif deri testi, geçmişteki bir teması gösterir, immünolojik cevabı iyidir, girişim gerekmez.
- d. IgM +, IgG +, IgA +/- : Geçmişteki kontakta ve yakınlarında yeniden temas olduğunu gösterir, girişim öğütlenbilir.

### b) Tüberkülozlu hastalar:

Konağın immün durumu zayıfladığı zaman mikobakteriyel hastalıkların kolaylaştığı veya şiddetlendiği kabul edilmektedir. İnfeksiyonun ilerlemesini kolaylaştıran kofaktörler (kanser, HIV, malnütriyon, uygun olmayan hayat şartları vs) ile hastalık kolayca ortaya çıkar. İmmün sistemin zayıflaması sonucu, konağın sellüler ve hümorale bağışıklığı bozulur, kötü yaşam koşullarında mikobakterilerin spontan yayılma ihtimali ve immünolojik anerji nedeniyle immün direnç kırılır. Basile karşı gelişen immün anerji, etkili tedaviye başlandıktan iki hafta sonra genellikle hafifler. Ancak tedavi uygun değilse veya infeksiyon terminal safhada ise azalmadan devam edebilir.

1. **Reaktif tüberküloz (RT):** Pozitif netice verir çünkü hastanın immünitesi iyidir. Klinikte hastalık lokalize formlarda görülür.
2. **Anerjik tüberküloz (AT):** İmmünderpresif hastalarda görülür. Bazen sınırı belirsiz lokalizasyonlarla karakterize hastalıklarda tüberküloz belirtileri basillerle amplifiye olur. Kaviterler, parenkimal destrüksiyon ve bol mikobakteri vardır. Çok ağır vakalarda antikorlar negatiftir.
3. **Ara durumlar:** Orta reaktif (IR) ve orta anerjik (IA) şeklinde seyir de görülebilir.

## V. İMMÜNOLOJİK ANERJİ

Tüberkülozlu hastaların %10-20'sinin humoral immünolojik durumu bozuktur. Bu hastalarda anerji nedeniyle negatif sonuçlar alınabilir. HIV virüsünde olduğu gibi Koch basilleri (KB)'nin de immünsüpresif etkileri vardır. HIV, KB'inin ve KB ise HIV'in kofaktörüdür. KB ile infekte pediatrik popülasyonun immünolojik cevapları, vakaların yaklaşık % 90'ında önceki bir infeksiyonun endojen reaktivasyonundan ileri gelmektedir. Bu cevabın erişkinlerde oluşandan farklı olduğuna dair deliller

## Özerol ve ark.

*Mikobakteri enfeksiyonlarının serolojik tanısı : antijen 60 (A60) 'ın özellikleri ve klinik kullanımı*

vardır. Bu reaktivasyon, yaşla doğru orantılı olarak, immün yetmezliğin şiddetiyle paralellik göstermektedir. Bu nedenle hastalık gelişmesine duyarlılık, infekte bireyin yapısına bağlı olarak, çok yüksek veya düşük olabilir. Şüpheli kişiler, tedavinin başlangıcında hücresel ve humoral immün anergi gösterir. Kofaktörler ile basillere bağlı bu immünsüpresyon, etkili tedaviyi takibeden ilk hafta sırasında ortadan kalkar, fakat tedavi uygun değilse veya geç başlamışsa devam edebilir.

### Pulmoner tüberküloz tanısında A60 ELISA testi

İnsan enfeksiyonlarında A60 - ELISA testi kullanılmaktadır. Bu amaç için ticari diyagnostik bir kit (Anda Biologicals, Strasbourg, France) geliştirilmiştir. İlk deneyler Mont Godinne'de Üniversite kliniği laboratuvarlarında yapılmış, üç kontrol grubu incelenmiştir. Yeni doğan çocuklar ve tüberkülin negatif sağlıklı erişkinler (kontroller) negatif reaksiyonlar verirken, 124 tüberkülin negatif nontüberküloz pulmoner hastanın 8'inde IgG pozitifliği tesbit edilmiştir. Yanlış pozitiflik hızı sağlıklı bireylerde sıfır, nontüberküloz pulmoner hastalığı olanlarda % 6 ve total vakalarda % 4 olarak bulunmuştur<sup>12</sup>.

**Primer tüberküloz vakaları aktif (son zamanlarda tüberkülin konversiyonu) ve inaktif (uzak geçmişte serokonversiyon) olarak 2 gruba ayrılmış, aktif pulmoner tüberkülozlu hastaların önemli bir fraksiyonu (%43), serolojik olarak pozitif iken inaktif vakalar negatif bulunmuştur. Aktif postprimer pulmoner tüberküloz grubundaki hastalarda serolojik pozitiflik oranı % 83 olarak tesbit edilmiş ve bu grupta çok yüksek anti-A60 IgG titreleri görüldüğü belirtilmiştir. Bunun aksine inaktif postprimer pulmoner tüberkülozlu hastaların yarısı ELISA testi ve kültür negatif olarak tespit edilmiştir. Ekstrapulmoner postprimer tüberkülozlu hastaların çoğunda pozitif sonuç vermesi nedeniyle aktif postprimer tüberkülozda görülen yanlış negatif testlerin; zayıf immün reaksiyonlara (debilizan hastalık), dolaşan immün komplekslere ve süpressör T lenfositlere bağlı olabileceği düşünülmektedir<sup>12-14</sup>.**

A60 bazlı serolojik testler ile benzer denemeler diğer merkezlerde de yapılmıştır. Bu çalışmalar sınırlı vaka sayısı ve sınırlı hastalık formu (çoğu postprimer pulmoner tüberküloz) nedeniyle yetersizdir. Çoğunda, sadece anti-A60 IgG tayini yapılmıştır; bununla birlikte, çok yakınlarda, farklı tüberküloz formlarında antimikobakteriyel IgG ve IgM seviyelerinin karşılaştırmalı değerlendirilmesi,

tüberküloz prevalansı yüksek olan bir Fransız merkezinde yapılmıştır<sup>10</sup>.

Gevaudan ve ark. nın 1644 kontrol vakası ve hasta üzerinde A60 ELISA kullanarak yaptıkları 6500 test'lik bir çalışmada; Kontrol grubunda sağlıklı kişilerin % 5'inde ve nontüberküloz pulmoner hastalıklı hastaların % 25'inde IgG pozitif bulunmuştur. Seçilen kontrol gruplarındaki fark (Fransız çalışmasında BCG aşılı tüberkülin pozitif ve Belçika çalışmasında aşısız, tüberkülin negatif hastalar) yanlış pozitif sonuçları açıklayabilir. Primer pulmoner tüberkülozlu 344 hastadan % 88'inde anti-A60 IgG ve % 75'inde IgM pozitif olarak tespit edilirken primer ekstrapulmoner tüberkülozlu vakalarda pozitiflik IgG için % 94 ve IgM için % 33 olarak tespit edilmiştir. Aktif ve inaktif postprimer tüberküloz vakaları (809 vaka) arasında çok belirgin farklar bulunmuştur. Hem pulmoner hem de ekstrapulmoner aktif tüberküloz vakalarının % 100'ünde yüksek titrede anti-A60 IgG ve düşük titrede IgM seviyesi gözlenmiştir. İnaktif postprimer tüberkülozda pozitiflik yüzdesi (% 57) ve IgG titreleri düşük bulunmuştur. Anti-A60 IgG ve IgM'in zaman içindeki seyirinin karşılaştırmalı analizleri yapılmış, primer tüberkülozun başlangıcında yüksek olan IgM seviyeleri giderek azalırken başlangıçta düşük olan IgG titreleri artış göstermiştir. Postprimer tüberküloz reaktivasyonu vakalarında hem IgG hem de IgM titreleri başlangıçta yüksek bulunmuş ve tedavi neticesinde, IgG'de daha yavaş olmak üzere, azalma tesbit edilmiştir. Anti-A60 IgM, hastalığın başlangıç veya reaktivasyon dönemlerinde yüksek çıkarken Anti-A60 IgG kronik seyir esnasında yüksek olarak ölçülmüştür. Bu nedenle, iki testin birlikte kullanılmasının yalancı pozitiflik ihtimalini azaltacağı sonucuna varılmıştır<sup>25</sup>.

Charpin ve ark. klinik öykü ve kültür pozitifliği esas alınarak seçilen dört grup hastayı incelemişler; pozitif ve negatif kültürü olan grupta ortalama IgG optik dansitesini 0.76, yakınlarda tüberküloz öyküsü (<2 yıl) olan grupta 0.85, uzak geçmişte (>10 yıl) enfeksiyonu olan grupta 0.45, ve tüberküloz öyküsü olmayan grupta 0.23 olarak tespit etmişlerdir. İnaktif tüberkülozla karşılaştırılınca aktif tüberkülozlu grupta pozitiflik seviyesi ve yüzdesi daha yüksek bulunmuştur. Bahsedilen dört grupta ortalama IgM optik dansite değerleri, sırasıyla, 0.51, 0.36, 0.11 ve 0.23 olarak tespit edilmiş ve bu sonuçlara göre IgM pozitifliğinin aktif vakalarla sınırlı olduğu düşünülmüştür<sup>31</sup>.

### Serolojik sınıflama ve yorumu

## Özerol ve ark.

Mikobakteri enfeksiyonlarının serolojik tanısı : antijen 60 (A60)'ın özellikleri ve klinik kullanımı

Tablo V. Serolojik verilerin yorumu<sup>9,12,14,15,17,22,39</sup>

| 5 IU Mantoux | 10 IU Mantoux | IgM | IgG | Mikrobiyoloji | Tedaviye cevap | Sonuçların yorumlanması      |
|--------------|---------------|-----|-----|---------------|----------------|------------------------------|
| +            | +             | -   | +/- | -             | +              | Reaktif (R) tüberküloz       |
| -            | -             | +/- | -   | +             | -              | Anerjik (A) tüberküloz       |
| +/-          | +             | +/- | +   | +/-           | +              | Orta reaktif (IR) tüberküloz |
| -            | +/-           | +   | +/- | +             | +/-            | Orta anejrik (IA) tüberküloz |

Mikobakteriyel hastalıklarda IgM ve IgG antikor araştırmalarından elde edilen serolojik veriler; klinik görünüm, mikrobiyoloji ve tüberkülin deri testi ile birlikte yorumlanmalıdır (Tablo V).

Kısaca IgM, IgG ve Mantoux deri testi sonuçları aşağıdaki şekilde yorumlanmalıdır;

1. M -, G - ve Mantoux + : Klinik belirtisiz veya Reaktif tipte hastalıęa ilerlemeyen son enfeksiyonu,
2. M -, G + ve Mantoux + : Ya terminal fazda Tüberkülozu ya da R veya IR tipine ilerleyen hastalığı,
3. M +, G + ve Mantoux + : IR veya IA tipine ilerleyen hastalığı,
4. M +, G - ve Mantoux + : IA tipine ilerleyen hastalığı,
5. M +, G - ve Mantoux - : A veya IA tipine ilerleyen hastalığı,
6. M -, G - ve Mantoux - : A tipinde nontüberküloz hastalık veya anejrik hastalığı,
7. M +, G + ve Mantoux - : IA veya IR tipine ilerleyen hastalığı,
8. M -, G + ve Mantoux - : IR tipinde hastalığı gösterir.

### A60'ın yeni bir tüberkülin olarak kullanılması

OT ve PPD'nin ana kısıtlılıkları; 1) kompozisyon bakımından bir defada alınan miktarlar farklıdır, 2) sıvı formda dayanıksızdır, 3) standardizasyonu tam yapılamaz (tüberkülin aktivitesi subjektif değerlendirilir). Bu mahzurlarından dolayı yeni tüberkülin araştırmaları amaçlanmıştır. A60'ın, OT ve PPD'nin bir komponenti olması ve geç aşırı duyarlılık reaksiyonlarını başlatabilmesi nedeniyle tüberkülozda deri testi olarak kullanılması planlanmıştır<sup>8,20,22,44</sup>. Tekrarlanan deri testlerinden sonra duyarlılaşmadan kaçınmak amacıyla yeni tüberkülinin bileşimi, minimal etkili dozuna göre minimal duyarlılaştırıcı dozundan 100 kat daha düşük olmalıdır. Yapılan deneylerde, duyarlı kobaylara 10 ng A60 verilerek pozitif deri reaksiyonu elde edilirken, 1000 kat daha yüksek miktarları duyarlılaşmaya neden olmamıştır. Bu nedenle A60 preparasyonları, yeni tüberkülinde beklenen özellikler bakımından yeterince tatmin edicidir. Biyolojik aktivite gösteren en düşük A60 miktarı (10

ng) referans tüberkülin miktarı (10µg)'ından 10<sup>4</sup> ve PPD miktarı (0.025)'ından 400 Ph Eur U daha fazladır. A60 deri testlerinde elde edilen sonuçlar ile PPD'deki uyumluluk göstermektedir. Deri testi için reagen olarak diğer mikobakteriyel komponentlerin (örn. antijen 5) kullanılması da planlanmaktadır<sup>23</sup>.

### SONUÇLAR

Tüberküloz serolojisi konusunda yayınlanan makalelerin A60 tabanlı üç immünoassay etrafında yoğunlaştığı gözlenmektedir: 1) İnfeksiyöz prosesin evrimini izlemekte kullanılan ELISA prosedürleri, 2) Tüberküloz menenjitin teşhisi için kullanılan immüno blot tekniği<sup>36,37</sup> ve 3) Tüberküloimmüniteyi tesbit etmek için kullanılan deri testleri.

Charpin ve ark.'larına göre; 1) Anti-A60 IgG antikorlarını saptayabilen ELISA testi ile negatif öykülü, şüpheli tüberküloz vakalarının çoğu doğru bir şekilde teşhis edilebilir. Çünkü hakiki pozitif vakaların % 97'sinde IgG pozitifdir, 2) IgG ve IgM testlerinin birlikte yapılması ile testin performansı artar, 3) Balgam incelemeleri negatif olan tüberkülozlu hastalar teşhis edilebilir, 4) Ağır hastalık formlarının görüldüğü gelişmekte olan ülkelerde testin sensitivitesi daha yüksektir<sup>31</sup>.

A60 ELISA'nın diyagnostik önemi birçok klinisyenin ilgisini çekmesine ve sessiz enfeksiyonların tesbit edilmesinde bu testin kullanılmasının epidemiyolojik önemi bariz olmasına rağmen, bu testin prognostik öneminin de vurgulanması gerekmektedir. A60 testleri ile mikobakteriyel enfeksiyonlardaki hücre sel ve humoral reaksiyonlar tespit edilerek hastalığın seyri (progresyon, regresyon ve relapslar) ve kemoterapinin etkinliği izlenebilmektedir.

A60 bazlı immünoassaylerin türe spesifikliği azdır. Bu nedenle *Mycobacterium* cinsi içinde farklı türler arasında kros reaktivite verir. Genlerle kodlanan tam amino asit sırası yerine türe spesifik epitoplardan tanımlanmasıyla kros reaktivite önlenemez. Günümüzde, bazı laboratuvarlarda rekombinan DNA teknolojisi ile türe spesifik epitoplarda elde edilebilmektedir.

### KAYNAKLAR



## Özerol ve ark.

*Mikobakteri enfeksiyonlarının serolojik tanısı : antijen 60 (A60)'in özellikleri ve klinik kullanımı*

1. Murray PR, Kobayashi GS, Pfaller MA, Rosenthal KS. Medical Microbiology. 2nd ed. Mosby-Year Book Inc. London. England 1994;320-33.
2. Kim TC, Blackman RS, Heatwole KM, Kim T, Rochester DF. Acid-fast bacilli in sputum smears of patients with pulmonary tuberculosis. Prevalence and significance of negative smears pretreatment and positive smears post-treatment. Am Rev Respir Dis 1984;129(2):264-8.
3. De Kesel M, Gilot P, Coene M, Cocito C. Composition and immunological properties of the protein fraction of A36, a major antigen complex of Mycobacterium paratuberculosis. Scand J Immunol 1992 ;36(2):201-12.
4. Maes R, Buffereau JP. ELISA serodiagnosis of Johne's disease in cattle. Int J Med Microbiol 1989 ;271(2):180-5.
5. Ma Y, Daniel TM. Isolation, characterization, and specificity of a glycoprotein antigen from Mycobacterium kansasii. Am Rev Respir Dis 1983 ;128(6):1059-64.
6. Besra GS, McNeil MR, Brennan PJ. Characterization of the specific antigenity of Mycobacterium fortuitum. Biochemistry 1992 ;31(28):6504-9.
7. Carlucci S, Beschin A, Tuosto L, Ameglio F, Gandolfo GM, Cocito C, Fiorucci F, Saltini C, Piccolella E. Mycobacterial antigen complex A60-specific T-cell repertoire during the course of pulmonary tuberculosis. Infect Immun 1993; 61(2):439-47.
8. Cocito C, Baelden MC, Benoit C. Immunological properties of antigen 60 of BCG. Induction of humoral and cellular immune reactions. Scand J Immunol 1987;25(6):579-85.
9. Zeiss CR, Kalish SB, Erlich KS, Levitz D, Metzger E, Radin R, Phair JP. IgG antibody to purified protein derivative by enzyme-linked immunosorbent assay in the diagnosis of pulmonary tuberculosis. Am Rev Respir Dis 1984; 130(5):845-8.
10. Maes R. Incidence of inapparent active mycobacterial infections in France detected by an IgG serological test based on antigen 60. Med Microbiol Immunol (Berl) 1989;178(6):315-21.
11. Sekar B et al. Serological response of leprosy patients to Mycobacterium leprae spesific and mycobacteria spesific antigens : possibility of usingthese assays in combinations. Lepr Rev 1993;64(1):15-24.
12. Fadda G, Grillo R, Ginesu F, Santoru L, Zanetti S, Dettori G. Serodiagnosis and follow up of patients with pulmonary tuberculosis by enzyme-linked immunosorbent assay. Eur J Epidemiol 1992;8(1):81-7.
13. Maes R, Homasson JP, Kubin M, Bayer M. Development of an enzyme immunoassay for the serodiagnostic of tuberculosis and mycobacterioses. Med Microbiol Immunol (Berl) 1989;178(6):323-35.
14. Kalish SB, Radin RC, Phair JP, Levitz D, Zeiss CR, Metzger E. Use of an enzyme-linked immunosorbent assay technique in the differential diagnosis of active pulmonary tuberculosis in humans. J Infect Dis 1983 ;147(3):523-30.
15. Radin RC, Zeiss CR, Phair JP. Antibodies to purified protein derivative in different immunoglobulin classes in the diagnosis of tuberculosis in man. Int Arch Allergy Appl Immunol 1983;70(1):25-9.
16. Jarosikova T, Kubin M. Level of serum antibodies to mycobacterial antigens in healthy Czechs. Bull World Health Organ 1992;70(4):439-41.
17. Benjamin RG, Debanne SM, Ma Y, Daniel TM. Evaluation of mycobacterial antigens in an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the serodiagnosis of tuberculosis. J Med Microbiol 1984 ;18(3):309-18.
18. Bollet C, De Lamballerie X, Zandotti C, Vignoli C, Gevaudan MJ, De Micco P. Detection and identification of Mycobacterium tuberculosis, M. bovis/BCG, and M. avium by two-step polymerase chain reaction. Comparison with ELISA using A60 antigen. Microbiologica 1992 ;15(4):345-9.
19. Ma Y, Wang YM, Daniel TM. Enzyme-linked immunosorbent assay using Mycobacterium tuberculosis antigen 5 for the diagnosis of pulmonary tuberculosis in China. Am Rev Respir Dis 1986 ;134(6):1273-5.
20. Ma Y, Daniel TM. Immunochemical analysis of tuberculin purified protein derivative with special reference to United States-Japan antigen 7. J Infect Dis 1983 ;148(3):500-9.
21. Amicosante et al. Antibody repertoire against the A60 antigen complex during the course of pulmonary tuberculosis. Eur Respir J 1993;6(6):816-22.
22. Benoit C, Beschin A, Dekeyser P, Cocito C. Delayed hypersensitivity reactions by the mycobacterial antigen A60 and cutaneus testing in tuberculosis. Med Microbiol Immunol 1989;178(2):105-12.
23. Daniel TM, Benjamin RG, Debanne SM, Ma Y,

## Özerol ve ark.

*Mikobakteri infeksiyonlarının serolojik tanısı : antijen 60 (A60) 'in özellikleri ve klinik kullanımı*

- Balestrino EA. ELISA of IgG antibody to M. tuberculosis antigen 5 for serodiagnosis of tuberculosis. *Indian J Pediatr* 1985 ;52(417):349-55.
24. Van der Werf TS, Das PK, van Soolingen D, Yong S, van der Mark TW, van den Akker R. Sero-diagnosis of tuberculosis with A60 antigen enzyme-linked immunosorbent assay: failure in HIV-infected individuals in Ghana. *Med Microbiol Immunol (Berl)* 1992; 181(2):71-6.
25. Gevaudan MJ, Bollet C, Charpin D, Mallet MN, De Micco P. Serological response of tuberculosis patients to antigen 60 of BCG. *Eur J Epidemiol* 1992; 8(5):666-76.
26. Cocito CG. Properties of the mycobacterial antigen complex A60 and its applications to the diagnosis and prognosis of tuberculosis. *Chest* 1991 ;100(6):1687-93.
27. Maes R Clinical usefulness of serological measurements obtained by antigen 60 in mycobacterial infections: development of a new concept. *Klin Wochenschr* 1991;69(15):696-709.
28. Cocito C, Vanlinden F. Metabolism of the TMA group of antigens during the growth cycle of mycobacteria. *Med Microbiol Immunol (Berl)* 1988;177(6):357-67.
29. Hubbard RD, Flory CM, Collins FM, Cocito C. Immunization of mice with the antigen A60 of *Mycobacterium bovis* BCG. *Clin Exp Immunol* 1992;88(1):129-31.
30. Bruneteau M; Perret J, Vanlinden F, Michel G, Cocito C. Composition and immunogenicity of the polysaccharide components of the thermostable macromolecular antigen group of mycobacterial antigens. *Med Microbiol Immunol (Berl)* 1992;181(1):13-23.
31. Charpin D, Herbault H, Gevaudan MJ, Saadjian M, de Micco P, Arnaud A, Vervloet D, Charpin J. Value of ELISA using A60 antigen in the diagnosis of active pulmonary tuberculosis. *Am Rev Respir Dis* 1990 ;142(2):380-4.
32. Baelden MC, Vanderelst B, Dieng M, Prignot J, Cocito C. Serological analysis of human tuberculosis by an ELISA with mycobacterial antigen 60. *Scand J Infect Dis* 1990;22(1):63-73.
33. Ridge SE, Vizard A. Determination of the optimal cutoff value for a serological assay: an example using the Johne's Absorbed EIA. *J Clin Microbiol* 1993 ;31(5):1256-61.
34. Vanacore R et al. Mycobacterial infection in HIV+ detected patients with a new immunological method (TB test). *Allerg Immunol* 1993;25(1):24-5.
35. McFadden JJ, Houdayer C. No evidence for antibodies to mycobacterial A60 antigen in Crohn's disease sera by enzyme-linked immunoabsorbent assay (ELISA). *J Med Microbiol* 1988;25(4):295-8.
36. Sindic CJ, Boucquey D, Van Antwerpen MP, Baelden MC, Laterre C, Cocito C. Intrathecal synthesis of anti-mycobacterial antibodies in patients with tuberculous meningitis. An immunoblotting study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1990 ;53(8):662-6.
37. Kalish SB, Radin RC, Levitz D, Zeiss CR, Phair JP. The enzyme-linked immunosorbent assay method for IgG antibody to purified protein derivative in cerebrospinal fluid of patients with tuberculous meningitis. *Ann Intern Med* 1983 ;99(5):630-3.
38. Alifano M, Del Pezzo M, Lamberti C, Faraone S, Covelli I. ELISA method for evaluation of anti-A60 IgG in patients with pulmonary and extrapulmonary tuberculosis. *Microbiologica* 1994 ;17(1):37-43.
39. Dündar V, Baran R, Akgül A, Güney C. Diagnostic value of ELISA for determining the occurrence of antibodies to antigen A60 in active pulmonary tuberculosis. *Mikrobiyol Bul* 1992 ;26(4):320-8.
40. Molino A, Carratu P, Alifano M, Sofia M. The detection of IgG against a specific mycobacterial antigen (A60) in the diagnosis of tuberculous pericarditis. *Monaldi Arch Chest Dis* 1993;48(6):617-9.
41. Del Pezzo M et al. A serological study of mycobacterial infections in AIDS and HIV-1 positive patients. *G Bacteriol Virol Immunol* 1990;83(1-12):3-9.
42. Quadri SM, Smith KK. Nonspecificity of the Anda A60-tb ELISA test for serodiagnosis of mycobacterial disease. *Can J Microbiol* 1992;38(8):804-6.
43. Cisse MF et al. Evaluation of ELISA using A60 antigen from *Mycobacterium bovis* BCG: specific IGG and IGM in mycobacterial infections. *Ann Biol Clin* 1990;48(6):369-73.
44. Cocito C, Vanlinden F. Preparation and properties of antigen 60 from *Mycobacterium bovis* BCG. *Clin Exp Immunol* 1986;66(2):262-72.

Yazışma adresi : Yrd.Doç.Dr.İ.Halil ÖZEROL  
İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Mikrobiyoloji ve K1.Mikr.ABD  
44300 MALATYA