

## TÜBERKÜLOZ'UN SEROLOJİK TANISINDA ELISA TESTİNİN TANI DEĞERİ

J. Sedef Bengisun\* • Münire Çakır Gökırmak\*\* • Elif Arıbal\*\*\*  
Nezihe Saygun\*\*\*\* • Hatice Özenci\*\*\*\*\*

### ÖZET

Akciğer tüberkülozundan kuşulanılan hastalarda, balgamın direkt incelenmesi her zaman sonuç vermemekte, kültür sonuçlarının beklenmesi ise tanıda gecikmeye yol açmaktadır. Bu nedenle son yıllarda akciğer ve akciğer dışı organ tüberkülozlarının tanısında kullanılmak üzere yeni tanı yöntemleri geliştirilmeye çalışılmaktadır. Bu amaçla çeşitli anti-jenlerle yapılan serolojik testler kullanılmaktadır. Bunlardan biride Enzim Bağlayan İmmunosorbent Yöntemi (ELISA) dir. Bizde bu çalışmada A60 anti-jenine karşı oluşan spesifik antikor düzeylerinin ELISA ile ölçümünün tanıya katkısını inceledik. 25 aktif, 11 inaktif akciğer tüberkülozlu hasta ve 25 sağlıklı bireylerin serumlarını ELISA yöntemi ile çalıştık. IgG, IgM ve IgA duyarlılığını sırasıyla %100, %44 ve %96, özgüllüğünü ise %8, %56 ve %60 olarak bulduk. Testin ancak, tüberküloz şüphesi olan kişilerde, tüberküloz basilinin gösterilemediği durumlarda, tanıya yardımcı bir test olarak kullanılabileceği sonucuna vardık.

**Anahtar Kelimeler:** Tüberküloz, Elisa testi

### SUMMARY

#### *Diagnostic Value of Elisa in the Serodiagnosis of Tuberculosis*

Bacteriological diagnosis of tuberculosis has some inherent problems. For examples, direct microscopic examinations of sputums from cases with suspected pulmonary tuberculosis aren't always yielding and the bacterial growth on cultures is usually timeconsuming. Because of these problems, diagnosis might be late. In recent years new diagnostic methods have been developed in the diagnosis of pulmonary and extrapulmonary tuberculosis.

For this purpose, serological tests, using various antigens, have been used. One of these tests is enzyme-linked immunosorbent assay. In this study we investigated the contribution of measurement of specific antibody levels against A60 antigen by ELISA method. The sera of 25 active pulmonary tuberculosis, 11 inactive pulmonary tuberculosis and 25 healthy controls were worked out by ELISA method. The sensitivity of IgG, IgM and IgA were 100%, 44% and 96% respectively. The spesificisy of IgG, IgM and IgA were 8%, 56% and 60% respectively.

We concluded that the test would be valuable only when tuberculosis bacilli can't be demonstrated in cases with suspected tuberculosis by classical methods.

**Key Words:** Tuberculosis, Elisa method

Tüberküloz(tbc) enfeksiyonu özellikle az gelişmiş ülkeler için önemli bir halk sağlığı sorunu olma özelliğini sürdürmektedir (1,2).

Tüberküloz enfeksiyonunun tanısı radyolojik ,klinik ve bakteriyolojik incelemelere bağlı olup, kesin tanıda birçok zorluklarla karşılaşmaktadır (2,3). ARB ile yapılan mikroskopik inceleme az sayıda basil içeren muayene örneklerinde olumsuz sonuç vermekte,

kültür işlemi ise uzun zaman aldığından Asido Rezistan Bakteri (ARB) negatif, kültür pozitif olan pulmoner tbc'li hastalarda tanı çabuk konamamaktadır.

Bu nedenle bu konuda serolojik bir teste her zaman ihtiyaç vardır. Tbc serolojisi konusunda ilk çalışma 1898 de yapılan agglütinasyon testidir (4). Bundan sonraki yıllarda Kompleman Fikzasyon testi (CFT), pasif hemagglütinasyon, jel presipitasyon, immunelekt-

\* Uzm.Dr., Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi İbn-i Sina Hastanesi Merkez Bakterioloji Lab.

\*\* Araştırma Gör., Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları ve Tüberküloz Anabilim Dalı

\*\*\* Araştırma Gör., Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

\*\*\*\* Prof.Dr., Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları ve Tüberküloz Anabilim Dalı

\*\*\*\*\* Prof.Dr., Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

roforez, immunfloresan gibi yöntemler tanımlanmış , ancak duyarlılık ve özgüllük açısından yetersizlikle karşılaşmıştır (5). Son yıllarda teknik olanakların artması sayesinde daha saf antijenlerin elde edilmesi ve Polimeraz Zincir Reaksiyonu( PCR), DNA prob teknikleri gibi daha duyarlı metodların geliştirilmesi sayesinde bu konudaki umutlar artmıştır. Ancak PCR ve DNA prob teknikleri gibi metodlar ülkemizde rutin kullanıma uygun kolaylıkta değildir (4).

Biz çalışmamızda Enzim Bağlayan İmmunosorbent Yöntem( ELISA) tekniği kullanarak A60 antijenine karşı aktif akciğer tbc'li 25, inaktif tbc'li 11 ve sağlıklı kontrol gurubu olarak 23 bireyin serumlarında IgG, IgM ve IgA cevabını araştırdık.

### GEREÇ VE YÖNTEM

Serum örnekleri A.Ü.T.F Göğüs Hastalıkları ve Tüberküloz Anabilim Dalı'nda izlenen 25 aktif, 11 inaktif tbc'li hastadan alındı. Kontrol grubu olarak 25 sağlıklı birey seçildi. Toplam 61 serum örneği 1/500 sulandırımında ELISA ANDA TB (Anda Biologicals, France) kiti ile çalışılarak, sonuçlar 450 nm dalga boyunda değerlendirildi.

Sonuçlar tek yönlü varyans analizi ve Duncan testi ile istatistiksel olarak değerlendirildi.

### BULGULAR

Aktif tbc'li 25 hastanın tamamında (%100) IgG (+),11 inde (%44) IgM(+), 24 ünde(% 96) IgA(+ ) saptandı

İnaktif grupta ise 11 hastanın 10 unda (%90.9) IgG, 5'inde (%45.4 ) IgM,9'unda (%81.8 ) IgA(+) saptanırken bu rakamlar kontrol gurubunda sırasıyla 20 (%80 ) ,10 (%40 ) ve 9 (%36 ) olarak bulundu.

Aktif grupta saptanan IgA cevabı diğer gruplardan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ( $p<0.001$ ) IgM cevabında tüm gruplar arasında fark saptanmadı. ( $p>0.05$ ) IgG cevabı açısından aktif tbc'li hastalar ile inaktif grup arasında fark saptanmazken

( $p>0.05$ ) her iki grup ile kontrol grubu arasında anlamlı fark saptandı. ( $p<0.001$ )

Bu çalışmada ELISA testinin gruplara göre sonuçları Tablo 1'de gösterilmiştir.A60 ile kaplanmış ELISA kiti ile IgG,IgM ve IgA için duyarlılığı sırasıyla %100,%44 ve %96, özgüllüğü %8,%56 ve %60 olarak belirlendi.

### TARTIŞMA

Tbc enfeksiyonu seyri sırasında mikobakteriyel antijenlere karşı hücresel bağışık yanıt yanında,humoral yanıtında oluştuğu ve özgül IgG , A ve M antikorlarında belirli seviyede artış olduğu değişik çalışmalarda gösterilmiştir (4 ).

Tbc enfeksiyonunun serolojik tanısında başta IgG olmak üzere IgM ve IgA tipi antikorların saptanması için ELISA 'nın yüksek derecede duyarlılığa ve özgüllüğe sahip olduğunu ileri süren yayınlar bulunmasına rağmen (1,6,7) testin duyarlılığının tbc prevalansının yüksek olduğu bölgelerde farklılık gösterdiği, özgüllüğünün ise kullanılan antijenlere bağlı olarak değiştiği bilinmektedir.

Ülkemizde ELISA ile tbc tanısı konusunda ilk çalışma Aksu ve arkadaşları tarafından yapılmıştır.Bu araştırmacılar basilin hücre duvarı antijenini kullanarak % 92 duyarlılık, %93 özgüllük bulmuşlardır (8).

Öztürk mikobakterilerin sonike edilmiş adsorbe antijeni (MSSA) kullanarak postprimer tbc'li hastalarda özgül IgG cevabı açısından duyarlılığı %89.9, özgüllüğü %98.7 tesbit etmişler, doğal olarak kazanılan PPD (+)'liğini ve BCG aşılmasının sağlıklı şahıslarda antikor pozitifliğini genellikle etkilemediğini bildirmişlerdir (4 ).

Saçılık aktif pulmoner tbc'li hastalar ile sağlıklı kontroller arasında IgG antikor titrelerinde mikobakteriyel sonike antijen kullanarak anlamlı farklılıklar bulunmuş duyarlılığı ve özgüllüğü %100 olarak bildirmişlerdir (2).

Kiran ve arkadaşları sonike edilmiş adsorbe antijen ile duyarlılığı %94,özgüllüğü %88 ,Levy ve arka-

Tablo 1: Aktif tüberküloz (n=25), İnaktif tüberküloz (n=11) ve Kontrol (n=25) gruplarında ELISA ile IgG,IgM ve IgA sayı ve oranları

	Aktif tbc		İnaktif tbc		Kontrol	
	n	%	n	%	n	%
IgG	25	100	10	90.9	20	80
IgM	11	44	5	45.4	10	40
IgA	24	96	9	81.8	9	36

daşları duyarlılığı %70, özgüllüğü %85.4 olarak bildirmişlerdir (9,10).

Durupınar ve arkadaşları ELISA(ANDA test kitiyle A60 antijeni kullanılan) ile IgG duyarlılığını %83, özgüllüğünü % 80 olarak bildirmişlerdir (11).

Araştırmacılar akut tbc tanısında en iyi ayırımı IgG antikorlarının saptadığını bildirmektedir (2,4,8,9,10,11). Bu çalışmada da IgG cevabı aktif tbc'li ve inaktif tbc'li hastalar arasında farklı bulunmazken ( $p>0.05$ ) Aktif ve inaktif tbc'li hastalar ile kontrol gurubu arasında anlamlı fark saptandı ( $p<0.001$ ). Bizim çalışmamızda duyarlılık %100, özgüllük %8 bulundu. Hastalığın başlangıcında IgG 'nin

düşük, IgM'in yüksek olduğu, ancak aktif hastalık esnasında IgM'in kaybolup IgG'nin çok yükseldiği bildirilmektedir. Postprimer enfeksiyonda ancak zayıf bir IgM cevabı bazen tesbit edilebilmektedir (4). Çalışmamızda IgM cevabı açısından gruplar arasında anlamlı fark bulunamadı ( $p>0.05$ ). IgM açısından duyarlılık %44, özgüllük %56 olarak tesbit edildi. Bizim sonuçlarımızda IgM cevabının tanıda ayırt edici özelliğinin olmadığı görüşünü desteklemektedir.

Bu çalışmada, A60 antijeni ile IgG düzeyinin ELISA testi ile ölçümünün, aktif akciğer tbc'nin tanısında özgüllüğü yüksek, ancak duyarlılığı düşük bir test olduğu sonucuna varıldı.

#### KAYNAKLAR

1. Dündar V, Baran R, Akgül A, Güney C. Aktif Akciğer Tüberkülozunda Antijen 60'a karşı oluşan antikorların ELISA ile saptanmasının tanı değeri. Mikrobiol Bült 1992; 26:4,320-328.
2. Saçılık CS. Aktif Akciğer Tüberkülozu tanısında ELISA'nın önemi. Enfeksiyon Dergisi. 1991; 5:1,27-30.
3. Coates ARM. Serology of Tuberculosis. Eur J Respir Dis 1980; 61:307.
4. Öztürk R. Mikobakterilerin Sonike Edilmiş Adsorbe Antijeni ve Purifiye Protein Derivesi kullanılarak yapılan ELISA ile Akciğer Tüberkülozunun Serolojik tanısı. Türk Mikrobiol Cem Derg 1993; 23:84-90.
5. Samastı M. Tüberkülozda Mikrobiyolojik Tanı Yöntemleri. Klimik Derg 1989; 2:6.
6. Krambovitis E: Detektion of Antibodies to M.tuberculosis Plasma Membrane Antigen by ELISA. J Med Microbiol 1986; 21:257-264.
7. Daniel TM. Rapid of Tuberculosis: Laboratory Techniques applicable in developing countries. Rev Infect Dis 1989; 11(suppl 2):471-478.
8. Aksu HSZ, Doğan ÜB, Akoğlu T, Aksaray N, Gürcay A. Mikobakteriel hücre duvarı antijenine karşı spesifik IgG antikorlarının gösterilmesi. Enfeksiyon Derg 1988; 2:169.
9. Kiran U, Kumar SR, Sharma A. Efficacy of three mycobacterial antigens in the serodiagnosis of tuberculosis. Eur J Respir Dis 1985; 66:187-195.
10. Levy H, Wadee AA, Feldman C, Rabson AR. Enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of antibodies against Mycobacterium tuberculosis in bronchial washings and serum. Chest 1988; 93(4):762-766.
11. Durupınar B, Yanbeyi S, Leblebicioğlu H, Günaydın M. Tüberkülozun tanısında ELISA testinin önemi. Mikrobiol Bült 1992; 26:338-344.