

Tüberkülozun Serolojik Tanısında Antijen 60'a Karşı Antikorların Tanı Değeri ve Çalışmaya Alınan Popülasyonun Önemi

Abdülkadir Erbağcı¹, Volkan Dündar², Fuat Çetinkaya², Nürten Kazgöl¹, Ahmet Refik Erem¹

Özet: Aktif postprimer (erişkin) 60, ekstrapulmoner 6, çocukluk çağı 20, inaktif akciğer tüberkülozlu 12 hasta serumu ve 73 tüberküloz-negatif kontrol serumunda, ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) yöntemi ile saflaştırılmış bir antijen olan antijen 60'a karşı IgG antikor düzeyleri saptanmış ve ülkemiz şartlarında bu testin tanı değeri incelenmiştir. Aktif postprimer akciğer tüberkülozunda ELISA ile antijen 60'a karşı IgG antikor saptanmasının duyarlılığı % 83, özgüllüğü % 91 ve pozitif prediktif değeri % 86 bulunmuştur. Yalancı pozitif sonuçların % 63'ü tüberküloz dışı akciğer hastalarında saptanmıştır. Test genellikle tüberküloz hastalarını tüberküloz dışı akciğer hastalarından ayırmak amacıyla kullanılacağı için, bu sonuçlara göre tüberküloz tanısında, ELISA ile IgG düzeyi saptanmasının, balgamın direkt muayenesinden üstün olmadığı, ancak klinik olarak şüphelenilen olgularda tüberküloz tanısına yardımcı olabileceği sonucuna varılmıştır. Balgamın direkt muayenesinin duyarlılığının çok düşük olduğu çocukluk çağı tüberkülozlu olgularda antijen 60 ELISA IgG testinin de duyarlılığının çok düşük (% 10) olduğu saptanmıştır.

Anahtar Sözcükler: Tüberküloz tanısı, antijen 60, ELISA.

Summary: Diagnostic value of antibodies to antigen 60 and the importance of the choosen population in serologic diagnosis of tuberculosis. IgG antibodies to purified antigen 60 have been detected with ELISA in the sera of 60 adult postprimary active tuberculosis, 20 childhood tuberculosis, 12 inactive pulmonary tuberculosis and 73 tuberculosis-negative controls. The sensitivity of IgG antibody detection with ELISA in active postprimary pulmonary tuberculosis were found 83% , specificity 91%, and positive predictivity 86%. About 63% of false positive results were observed in patients who have pulmonary diseases other than tuberculosis. Depending on our results we condude that, the detection of IgG levels by ELISA is definitely not superior to sputum examination since the aim of the test is to differentiate the tuberculosis from nontuberculosis conditions. Only it may be helpful in the diagnosis of tuberculosis in the clinically suspected cases. It was also observed that the sensitivity of antigen 60 ELISA IgG test is very low (10%) in case of childhood tuberculosis where direct sputum examination sensitivity is also very low.

Key Words: Diagnosis of tuberculosis, antigen 60, ELISA.

Giriş

Tüberküloz, özellikle gelişmekte olan ülkeler için önemli bir halk sağlığı sorunudur. Dünyadaki bütün tüberkülozlu hastaların % 95'i bu ülkelerde bulunmakta ve tüberküloz nedeniyle ölümlerin % 99'u da yine bu ülkelerde gerçekleşmektedir (1). Ülkemizde tüberküloz prevalansının % 0.35 olduğu, her yıl en az 30-40 bin yeni hasta ortaya çıkabileceği, ölüm nedenleri sıralamasında tüberkülozun 18. sırada yer aldığı bildirilmektedir (2). Tüberkülozla mücadelede en önemli konu, ucuz, tekrarlanabilir ve kolay uygulanabilir tanı metodları ile prevalansın yüksek olduğu toplumlarda, yeni vakaları erken dönemde belirlemek ve toplum için bulaşma kaynağı oluşturan hastaları saptayabilmektir. Buna göre tüberküloz tanısında kabul edilen ve kullanılan temel tanı metodu direkt balgam yaymasında basilin gösterilmesidir (3). Bu nedenle yeni bir tanı yönteminin kullanılabilirliği, balgam yayması ile kıyaslanmalıdır (4). Balgam yayması, deneyimli kişilerce tekrarlanarak uygulandığında özgüllüğü % 99.8, duyarlılığı % 57-79 bulunmaktadır (5-7). Ancak primer ve ekstrapulmoner tüberküloz olgularında bu yöntem kullanılamaz (8). Özgüllüğü balgam yayması ile kıyaslanabilecek düzeyde, duyarlılığı yaymadan daha yüksek, aktif tüberkülozun erken tanısında kullanılabilir, serolojik bir test, çok yararlı olabilecektir.

ELISA; kolay, ucuz, tekrarlanabilir bir yöntem olarak tüberkülozun serolojik tanısında dikkat çeken özelliklere sahiptir. Çeşitli antijenlerin kullanılmasıyla yapılan ön çalış-

malar aktif akciğer tüberkülozunun serolojik tanısında ELISA ile cesaret verici sonuçlar ortaya koymuştur (3,9-13). Ancak yapılan çalışmalar az sayıda negatif kontrol olgusu içerdiği için varılan sonuçların güven aralığı (confidence interval) tatmin edici değildir (8,14). Negatif kontrol grubunda, çalışmanın yapıldığı popülasyonu temsil edecek oranda sağlıklı PPD-pozitif kişinin ve tüberküloz dışı akciğer hastasının bulunduğu daha dikkatli çalışmalar ise tatmin edici özgüllük değerleri vermekten uzaktır (3,8).

Bu çalışmada, hasta ve kontrol gruplarında antijen 60'a karşı oluşan IgG antikorlarının ELISA ile saptanmasının aktif akciğer tüberkülozunda tanı değeri, PPD-pozitif sağlıklı ve tüberküloz dışı akciğer hastası kişilerin sonuçlara etkisi incelenmeye çalışılmıştır.

Yöntemler

Hasta ve Kontrol Grupları

Grup 1. Heybeliada Sanatoryomu Göğüs Hastalıkları ve Göğüs Cerrahi Merkezi'nde yatan direkt balgam yayması ve kültür-pozitif, aktif postprimer (erişkin) akciğer tüberkülozlu 60 hasta.

Grup 2. İkiisi menenjit, dördü ürogenital tüberküloz olmak üzere ekstrapulmoner tüberkülozlu 6 hasta (tam beyin-omurilik sıvısı ve idrar kültürü, ya da genital biyopsi ile konmuştur).

Grup 3. Beykoz Çocuk Hastanesi'nde yatan, tanısı radyolojik ve klinik olarak konan tüberkülozlu 20 çocuk hasta.

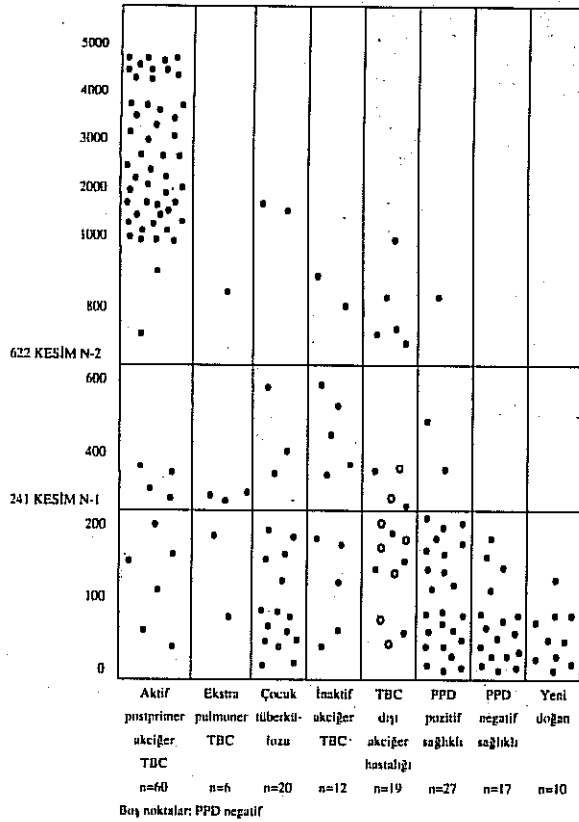
Grup 4. İki yıl ve daha uzun süre önce tedavisi sonlanmış, takip sırasında nüks görülmemiş inaktif akciğer tüberkülozlu 12 eski hasta.

Grup 5. Kartal Devlet Hastanesi'nde yatan radyolojik ve

(1) Heybeliada Sanatoryumu, Göğüs Hastalıkları ve Göğüs Cerrahi Merkezi, Heybeliada-İstanbul.

(2) Haydarpaşa Numune Hastanesi, Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Servisi, Haydarpaşa-İstanbul.

ELISA Ünitesi



Şekil 1. Hasta ve Kontrol olgularının antikor düzeylerinin ELISA Ünitesi olarak dağılımı

Tablo 1. Hasta ve Kontrol Gruplarının IgG Antikor Ortalama \pm Standard Sapma Değerleri (EÜ)

Gruplar*	Sayı	IgG EÜ Ortalama \pm SD**
1. Aktif postprimer	60	2308 \pm 1500
2. Ekstrapulmoner	6	341 \pm 260
3. Çocukluk	20	286 \pm 452
4. İnaktif	12	364 \pm 283
5. Tüberküloz dışı		
PPD-pozitif	11	482 \pm 359
PPD-negatif	8	170 \pm 103
6. Sağlam		
PPD-pozitif	27	165 \pm 176
7. Sağlam		
PPD-negatif	17	87 \pm 47
8. Yenidoğan	10	70 \pm 24

* Gruplar Yöntemler bölümünde tanımlanmıştır.

** SD: Standard sapma

bakteriyolojik olarak tüberküloz olmayan 14 ve akciğer maligniteli 5, toplam 19 tüberküloz dışı akciğer hastası (sekiz hasta PPD-negatif, 11 hasta PPD-pozitif).

Grup 6. Kartal Ana ve Çocuk Sağlığı Merkezi'nde ve Haydarpaşa Numune Hastanesi'nde çalışan sağlıklı, PPD-pozitif 17 kişi.

Grup 7. Kartal Ana ve Çocuk Sağlığı Merkezi'nde ve Haydarpaşa Numune Hastanesi'nde çalışan sağlıklı, PPD-negatif 17 kişi.

Grup 8. Kartal Devlet Hastanesi Kadın-Doğum Kliniği'nde doğum yapan, sağlıklı, tüberküloz hikayesi bulunmayan 10 annenin yeni doğan bebekleri (kordon kanı).

Hasta ve kontrol grubu olgularından alınan kanların serumları ayrılmış ve testin yapıldığı güne kadar -20°C'de saklanmıştır.

ELISA Testi

Bu çalışmada *Mycobacterium bovis* (BCG) sitoplazmasından saflaştırılmış olan antijen 60'ın kullanıldığı ANDELISA TUBERCULOSIS IgG (Anda Biologicals, Strasbourg) diyagnostik kiti kullanılmıştır. Test, kitin kullanım kılavuzuna uyularak gerçekleştirilmiş, hasta ve kontrol serumları 200 kez sulandırılmıştır. 450 nm dalga boyunda okunan optik dansite değerleri kalibrasyon eğrisi yardımı ile ELISA ünitesine (EÜ) çevrilerek (15,16) ve sulandırma faktörü (X 200) ile çarpılarak antikor düzeyleri saptanmıştır.

Kesim Noktası

Tüberküloz tanısı koymak için gereken minimum antikor düzeyi "kesim noktası" (cut-off) olarak adlandırılmıştır. Kesim noktası, kontrol grubu ortalaması +2. standard sapma şeklinde hesaplanmaktadır. Bu çalışmada iki kesim noktası kullanılmıştır. Kesim noktası-1 hesaplanmasında kontrol grubu olarak Grup 5'te bulunan sekiz PPD-negatif tüberküloz dışı akciğer hastası ve Grup 7, 8'de bulunan sağlıklı kişiler alınmıştır. Kesim noktası-2 hesaplanmasında ise kontrol grubu olarak Grup 5, 6, 7 ve 8'de bulunan PPD-negatif ve pozitif bütün kişiler alınmıştır (3,17,18).

Antijen 60 ELISA Testinin Tanı Değeri

Testin tanı değeri; duyarlılık, özgüllük, negatif ve pozitif prediktif değer özellikleri ile değerlendirilmiştir (3,14, 19). İstatistiksel analizler, ortalamalar arası farkın önem testi (t testi) ile yapılmıştır (20).

Sonuçlar

Çalışmamıza alınan aktif postprimer (erişkin) tüberkülozlu 60, ekstrapulmoner tüberkülozlu 6, çocukluk tüberkülozlu 20, inaktif akciğer tüberkülozlu 12 hasta ve dört farklı kontrol grubundaki 73 kişiden toplanan, toplam 171 serum örneğinde antijen 60'a karşı oluşan antikor düzeyleri ELISA ünitesi (EÜ) olarak saptanmıştır. Elde edilen IgG düzeyleri dağılımı EÜ olarak Şekil 1'de gösterilmiştir. Hasta ve kontrol gruplarının IgG düzeyleri dağılımı EÜ olarak Şekil 1'de gösterilmiştir. Hasta ve kontrol gruplarının IgG ortalaması \pm standard sapma değerleri (EÜ) Tablo 1'de gösterilmiştir.

Tüberküloz dışı PPD-pozitif akciğer hastalarının IgG EÜ ortalaması 482 \pm 359, PPD-negatiflerinin 170 \pm 103 bulunmuştur, aradaki fark önemlidir (p<0.05). PPD-pozitif sağlıklı kişilerin IgG EÜ ortalaması 165 \pm 176, PPD-negatif sağlıklı ki-

Tablo 2. Farklı Kontrol Gruplarına Göre Saptanan Kesim Noktaları (EÜ)

	Kesim noktası-1	Kesim noktası-2
Ortalama + 2 SD*	241	622
Ortalama + 2.5 SD	276	732
Ortalama + 3 SD	311	842

* SD: Standard sapma

tur, aradaki fark önemlidir ($p<0.05$). PPD-pozitif sağlıklı kişilerin IgG EÜ ortalaması 165 ± 176 , PPD-negatif sağlıklı kişilerin 87 ± 47 bulunmuştur, aradaki fark önemlidir ($p<0.05$). Tüberküloz dışı PPD-pozitif akciğer hastalarının IgG EÜ ortalaması, PPD-pozitif sağlıklı kişilerden, tüberküloz dışı PPD-negatif akciğer hastalarının IgG EÜ ortalaması, PPD-negatif sağlıklı kişilerden yüksek bulunmuştur ($p<0.05$).

Kontrol gruplarında antikor düzeylerinin PPD pozitifliği-ne göre önemli ölçüde farklı olması nedeniyle testin pozitifliğini saptamak için iki kesim noktası oluşturulmuştur. Buna göre Kesim noktası-1 241 EÜ, Kesim noktası-2 622 EÜ olarak bulunmuştur. Ayrıca testin özgüllüğünü daha da artırmak amacıyla Kesim noktası-1 ve 2, kendi ortalamaları +2.5. standard sapma ve kendi ortalamaları +3. standard sapma olarak hesaplanmıştır (Tablo 2) (17).

Saptanan kesim noktalarına göre serumda antijen 60'a karşı antikor araştırılmasının tanı gücü (duyarlılık, özgüllük, pozitif ve negatif prediktif değer) Tablo 3'te gösterilmiştir. Buna göre Kesim noktası-2 en yüksek özgüllüğü sağlamış (% 91-95) ve ortalama +3.SD Kesim noktası-2 olarak kullanıldığında özgüllük ancak % 95'e çıkmıştır (Tablo 3).

Tüberküloz tanısında sorun oluşturan gruplar ayrı ayrı incelendiğinde; çocukluk çağı akciğer tüberkülozlu hastalarda Kesim noktası-1'de % 20, Kesim noktası-2'de % 10 duyarlılık bulunmuştur (Şekil 1). Bu gruba uygun negatif kontrol grubu olmadığı için çocukluk çağı tüberkülozunda testin özgüllüğü incelenmemiştir. İnaktif akciğer tüberkülozlu 12 olguda Kesim noktası-1 için % 58, Kesim noktası-2 için ise % 17 yalancı pozitif sonuç bulunmuştur (özgüllük % 42-83). PPD-pozitif 27 sağlıklı erişkinden Kesim noktası-1 için üç olgu, Kesim noktası-2 için bir olgu (özgüllük % 89-96) pozitif bulunmuştur. PPD-negatif sağlıklı yetişkin ve yenidoğanlarda pozitif test sonucu bulunmamıştır (Şekil 1).

İrdeleme

Bir testin tanı değeri; duyarlılık, özgüllük, pozitif ve negatif prediktif değeri incelenerek ölçülür (3,8,14,19). Hasta ve sağlıklı olguların testle elde edilen ortalama değerlerinin arasındaki farkın istatistiksel önem kontrolü (Student t testi), testin tanı değerini göstermez (3,8). Aktif tüberküloz enfeksiyonunun serolojik tanısında antikorların ELISA yöntemiyle saptanması ilk çalışmalarda yüksek derecede duyarlı ve özgül bulunmuştur (6,9-13). Ancak daha sonra yapılan dikkatli çalışmalar, PPD-pozitif sağlıklı kişilerde, tüberküloz dışı akciğer hastalarında, inaktif akciğer tüberkülozlu hastalarında yüksek düzeyde antikor bulunabileceğini, bu olgular nedeniyle testin özgüllüğünün ve buna bağlı olarak pozitif prediktif değerinin düşebileceğini göstermiştir (3,18,21-24). Test sonucu tüberküloz tanısı konan bir hastada daha sonraki tanı girişimlerinden vazgeçilip, lüzumsuz bir tedaviye giriş-

Tablo 3. Aktif Postprimer Akciğer Tüberkülozunda Farklı Kesim Noktalarına Göre IgG ELISA Testinin Tanı Gücü

	Duy*	Öz	PozPrDe	NegPrDe
Kesim noktası-1				
Ort + 2 SD	90	78	74	92
Ort + 2.5 SD	87	81	76	90
Ort + 3 SD	87	82	78	90
Kesim noktası-2				
Ort + 2 SD	83	91	86	89
Ort + 2.5 SD	82	91	86	88
Ort + 3 SD	82	95	92	88

* Duy: Duyarlılık, Öz: Özgüllük, PozPrDe: Pozitif prediktif değer, NegPrDe: Negatif prediktif değer.

leceği göz önüne alınırsa, yalancı pozitif test sonucu klinisyenin başka tanı metodlarını kullanmasını engelleyebilir ve altta yatan, yaşamı tehdit edebilecek ciddi hastalıkların gözden kaçmasına neden olabilir. Ayrıca bu şekilde yalancı pozitif test sonucu ile karşılaşan klinisyenler bu tanı yöntemini kullanmaktan kısa sürede vazgeçeceklerdir. Bu nedenle testin pozitif prediktif değerinin % 100'e yakın olması gerekmektedir (3,17). Testin pozitif prediktif değeri hem testin özgüllüğünden hem de çalışılan toplumdaki aktif tüberküloz prevalansından etkilenir (3,4,8). Testin özgüllüğünün % 99 olduğu kabul edilse, pozitif prediktif değerinin % 95'in üzerinde olabilmesi için, hastalık prevalansının çalışılan popülasyonda % 15-40 arasında olması gerekmektedir (3,4,8). Bu nedenle genel tüberküloz prevalansının % 0.3-1 tahmin edildiği toplumlarda böyle bir testin pozitif prediktif değeri % 15'e kadar düşebilecektir. Bu şartlarda test genel tarama testi olarak kullanılamaz (3,8). Ancak tüberküloz prevalansının yüksek olduğu bu gibi toplumlarda klinik ve radyolojik olarak tüberküloz düşünülen hastaların % 40-60 kadarında aktif tüberküloz enfeksiyonu saptanmaktadır (7,21). Bu nedenle özgüllüğü yüksek bir ELISA testi ile klinik ve radyolojik olarak önceden seçilmiş gruplarda çalışmak anlamlı olabilir (3).

Aktif tüberküloz enfeksiyonunun tanı değerini inceleyen çalışmalarda hasta olmadan yüksek düzeyde antikor taşıyan sağlıklı kişilerin varlığı, testin özgüllüğünü etkileyecektir (18,21,23,24). Bu nedenle, çalışmaya toplumdakine benzer oranda antikor düzeyi yüksek beklenen sağlıklı kişi alınmalıdır (4,18). Bu çalışmada PPD-pozitif tüberküloz dışı akciğer hastaları ve sağlıklı kontrol olgularının ortalama IgG düzeyleri, PPD-negatiflerden anlamlı ölçüde yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Benjamin ve Daniel (21) ile Kardjito ve arkadaşları (25) da benzer olarak PPD-pozitif sağlıklı kişilerde PPD-negatif sağlıklı kişilerden anlamlı ölçüde daha yüksek IgG düzeyleri bildirmişlerdir. Bu nedenle çalışmamızda testin pozitifliği iki farklı kesim noktası (cut-off) ile incelenmiştir. Yalnızca PPD-negatif kontrol grubu ile hesaplanan Kesim noktası-1 241 EÜ, PPD-negatif ve pozitif kontrol grubu ile hesaplanan Kesim noktası-2 622 EÜ olarak bulunmuştur (Tablo 2). Aktif tüberküloz ve kontrol olguları Kesim noktası-1'e göre değerlendirildiğinde testin özgüllüğü % 78, Kesim noktası-2'ye göre ise % 91 bulunmuştur. Testin duyarlılığı ise Kesim noktası-1'e göre % 90 iken, Kesim noktası-2'ye göre % 83'e düşmüştür. Bu çalışmada özgüllüğü daha da artır-

mak için (17) Kesim noktası-2'yi ortalama +3.SD olarak saptadığımızda Kesim noktası-2 842 EÜ'ne yükselmiştir (Tablo 2). Bu kesim noktasına göre özgüllük % 95'e çıkmış ve duyarlılık % 82 olarak bulunmuştur (Tablo 3). Ülkemizde benzer hasta ve kontrol gruplarıyla yapılan bir çalışmada, kontrol grubu ortalaması +3.SD ile saptanan % 100 özgüllük, duyarlılıktaki aşırı düşme (% 46) pahasına sağlanmıştır (26). Bu veriler göz önüne alındığında aktif tüberküloz infeksiyonunun serolojik tanısında antikorların ELISA yöntemiyle saptanmasının, özgüllüğü % 99.8, duyarlılığı % 57-79 olarak bildirilen direkt balgam yaymasına üstün olmadığı, ancak tanıya destek verebileceği sonucuna varılmıştır (3,5-7).

Çocukluk çağı tüberkülozlarında balgamın direkt yayması düşük duyarlılığı nedeniyle yetersizdir (3,17,27). Bu çalışmada çocukluk çağı tüberkülozlu 20 çocuktan ancak ikisinde Kesim noktası-2'ye göre pozitif sonuç elde edilmiştir (duyarlılık % 10) (Şekil 1). Bu grubun özelliklerine sahip tüberküloz olmayan çocuk kontrol grubunun çalışmada bulunmaması

nedeniyle, çocukluk çağı tüberkülozu için ayrı bir kesim noktası hesaplanamamış, ayrıca testin özgüllüğü de ölçülememiştir. Saptanan % 10 duyarlılık, erişkin tüberkülozular için saptanan kesim noktalarının bu olgular için kullanılmayacağını göstermiştir.

Çalışmamızda tüberküloz dışı akciğer hastalarının, testin yalancı pozitifliklerinin çoğunluğundan sorumlu olduğu ortaya çıkmaktadır. Klinik uygulamada ELISA IgG antikor testi özellikle tüberkülozu bu hastalardan ayırmakta kullanılacağı için, uygulamada testin özgüllüğü ve pozitif prediktif değerinin çalışmamızda elde ettiğimiz değerlerden daha düşük olması beklenmelidir.

Sonuç olarak ELISA yöntemi ile IgG antikorlarının saptanması, kullanım kolaylıklarına rağmen, ülkemiz şartlarında, aktif akciğer tüberkülozu infeksiyonu için tarama testi olarak kesinlikle kullanılamaz. Rutin klinik uygulamada, balgamın direkt yaymasından daha üstün değildir. Ancak şüphelenilen olgularda pozitif ELISA IgG testi tanıya destek verebilir.

Kaynaklar

- Kocabaş A. Günümüzde tüberküloz sorunu. In: Kocabaş A, ed. *Tüberküloz Kliniği ve Kontrolü*. Adana: Çukurova Üniversitesi Basımevi, 1991: 3-32.
- Bilgiç H. Tüberküloz epidemiyolojisi. In: Kocabaş A, ed. *Tüberküloz Kliniği ve Kontrolü*. Adana: Çukurova Üniversitesi Basımevi, 1991: 401-437.
- Grange JM, Laszlo A. Serodiagnostic tests for tuberculosis: a need for assessment of their operational predictive accuracy and acceptability. *Bull WHO* 1990; 68: 571-5.
- Daniel TM. Rapid diagnosis of tuberculosis: laboratory techniques applicable in developing countries. *Rev Infect Dis* 1989; 11 (Suppl 2): 471-8.
- Aluoch JA, Babu Swai O, Edwards EA, Stott H, Darbyshire JH, Fox W, Sutherland I. Study of case-finding for pulmonary tuberculosis in outpatients complaining of a chronic cough at a distant hospital in Kenya. *Am Rev Respir Dis* 1984; 129: 915-20.
- 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: 845-8.
- Daniel TM, De Murillo GL, Sawyer JA, Griffin AM, Pinto E, Debanne SM, Espinosa P, Cespedes E. Field evaluation of enzyme-linked immunosorbent assay for the serodiagnosis of tuberculosis. *Am Rev Respir Dis* 1986; 134: 662-5.
- Daniel TM, Debanne SM. The serodiagnosis of tuberculosis and other mycobacterial diseases by enzyme-linked immunosorbent assay. *Am Rev Respir Dis* 1987; 135: 1137-51.
- Nassau E, Persons ER, Johnson GD. The detection of antibodies to Mycobacterium tuberculosis by microplate enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Tubercle* 1976; 57: 67-70.
- 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: 1273-5.
- Aksu HSZ, Doğan UB, Akoğlu T, Aksaray N, Gürçay A. Mikobakteriyel hücre duvarı antijenine karşı spesifik IgG antikorlarının ELISA ile gösterilmesi. *İnfeksiyon Dergisi* 1988; 2: 169-75.
- Saçılık SC. Aktif akciğer tüberkülozu tanısında ELISA'nın önemi. *İnfeksiyon Dergisi* 1991; 5: 27-9.
- Saçılık SC. Tüberkülozun serolojik tanısında enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) testinin önemi. *Mikrobiyol Bül* 1991; 25: 294-8.
- Arkin CF, Wachtel MS. How many patients are necessary to assess test performance. *JAMA* 1990; 263: 275-8.
- 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: 63-73.
- Maes R, Homasson JP, Kubin M, Bayer M. Development of an enzyme immunoassay for the serodiagnosis of tuberculosis and mycobacterioses. *Med Microbiol Immunol* 1989; 178: 323-35.
- Daniel TM. Antibody and antigen detection for the immunodiagnosis of tuberculosis: Why Not? What more is needed? Where do we stand today? *J Infect Dis* 1988; 158: 678-80.
- Krambovitis E. Detection of antibodies to Mycobacterium tuberculosis plasma membrane antigen by enzyme-linked immunosorbent assay. *J Med Microbiol* 1986; 21: 257-64.
- Illstrup DM. Statistical methods in microbiology. *Clin Microbiol Rev* 1990; 3: 219-26.
- Sümbüloğlu K, Sümbüloğlu V. *Biyoistatistik*. Ankara: Çağ Matbaası, 1987.
- Benjamin RG, Daniel TM. Serodiagnosis of tuberculosis using the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) of antibody to Mycobacterium tuberculosis antigen, 5. *Am Rev Respir Dis* 1982; 126: 1013-6.
- 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: 380-4.
- Maes R. Incidence of inapparent active mycobacterial infections in France detected by an IgG serological test based on antigen 60. *Med Microbiol Immunol* 1989; 178: 315-21.
- Thongkrajai P, Lulitanon V, Chamnanvanakit C. Improved ELISA with immunoabsorbent-purified mycobacterial antigen for serodiagnosis of tuberculosis. *J Med Microbiol* 1989; 30: 101-4.
- Kardjito T, Handoyo I, Grange JM. Diagnosis of active tuberculosis by immunological methods. 1. The effect of tuberculin reactivity and previous BCG vaccination on the antibody levels determined by ELISA. *Tubercle* 1982; 63: 269-74.
- Dündar V, Baran R, Akgül A, Güney C. Aktif akciğer tüberkülozunda antijen 60'a karşı oluşan antikorların ELISA ile saptanmasının tanı değeri. *Mikrobiyol Bül* 1992; 26: (baskıda).
- Alde SLM, Pinasco HM, Pelosi FR, Budani HF, Palma-Beltran OH, Gonzales-Montaner LJ. Evaluation of an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) using an IgG antibody to Mycobacterium tuberculosis antigen 5 in the diagnosis of active tuberculosis in children. *Am Rev Respir Dis* 1989; 139: 748-51.