

TÜBERKÜLOZ TANISINDA A60 ANTİJENİNİN YERİ

M.Hamdi MUZ, Teyfik TURGUT, Figen DEVECİ, Osman ÖZ.

Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı, ELAZIĞ.

ÖZET

Dünya çapında önemli bir sağlık sorunu olan tüberkülozun (tbc) kesin tanı yöntemi olan kültürün 45 gün gibi uzun bir sürede sonuç vermesi tedaviye başlamayı geciktirmektedir. Erken tanı yöntemi olan, balgam veya mide açlık suyunda direk basil aranmasına alternatif yöntemler araştırılmaktadır. A60 antijeni mikobakterinin sitoplazmasında bulunan ve yüksek oranda immun cevap oluşturan bir antijen olup serolojik tanıda yararlı olacağı düşünülmektedir. 21 aktif akciğer tbc'li, 20 inaktif akciğer tbc'li ve 22 nonspesifik akciğer enfeksiyonu olan (kontrol) toplam 63 olgunun serumunda A60 antijenine karşı meydana gelen IgG ve IgM düzeyleri ölçüldü.

Farklı cut-off değerlerine göre (225 Ü ve 254 Ü) IgG için sensitivite sırasıyla %80.95 ve %71.43, spesifitesi sırasıyla %81.82 ve %86.37 olarak bulundu. Sensitivite ve spesifite IgM için %28.57, %86.37, direk yayma için %66.66 ve %100 olarak bulundu. IgG'nin sensitivitesi direkt yaymadan daha yüksek olmakla birlikte spesifitesi daha düşüktü. IgG'nin farklı cut-off değerlerine rağmen inaktif akciğer tbc'lilerde ve kontrol grubunda da pozitif çıkması testin tanıdaki değerini azaltmaktadır. IgM'in ise hem sensitivitesi hemde spesifitesi direkt yaymadan daha düşük olarak bulundu.

Sonuç olarak IgG düzeyinin aktif tbc tanısında tek başına yetersiz olacağı, yardımcı bir yöntem olabileceği, tüberkülin deri testi gibi yoruma açık olduğu, diğer bulgularla beraber değerlendirilmesi gerektiği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: A60 antijeni, tüberküloz, tanı

(Solunum 2002;4:386-390)

SUMMARY

VALUE OF A60 ANTIGEN IN SERODIAGNOSIS OF TUBERCULOSIS

Tuberculosis is still an important problem in the world. Because of the sputum culture which results in 45 day the certain diagnosis of tuberculosis can be delayed. Alternative methods for early diagnosis (the recovery of tubercle basilli in sputum or hungry stomach liquid) have been investigated. A60 antigen is present in the cytoplasm of mycobacterium and causes highly immune response, because of this, it is thought that A60 antigen can be useful for serologic diagnosis. The IgG and IgM levels against serum A60 antigen were measured in 21 active and, 20 inactive pulmonary tuberculosis and 22 nonspecific pulmonary infection (totaly 63 cases).

Sensitivity and spesifity according to different cut-off levels (225U and 254U) were found 80.95%, 71.43% and 81.82%, 86.37% respectively for IgG. Sensitivity and spesifity were found 28.57% and 86.36% respectively for IgM, 66.6% and 100% for direct sputum smear. The sensitivity of IgG was higher than direct sputum sample but its spesifities were more lower. Although different cut-off levels the IgG test was positive in inactive tuberculosis cases and control group, result of the value of the test becomes decreased. The spesifity and the sensitivity of IgM were lower than direct sputum smear.

In conclusion, we think that in the diagnosis of active tuberculosis alone the level of IgG can not be enough but it can be a helper method, it is controversial as tuberculin skin test, it must be evaluated with the other findings.

Key Words: A60 antigen, tuberculosis, diagnosis

(Solunum 2002;4:386-390)

Yazışma Adresi: Prof.Dr.M.Hamdi MUZ, Fırat Üniversitesi, Fırat Tıp Merkezi Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı, ELAZIĞ.

Tel: 0 424 2333555/2267-2276

E-Mail: mhmuz@yahoo.com

Toraks Derneği 4. Yıllık Kongresi 30 Mayıs- 2 Haziran 2001, İzmir'de sunulmuştur.

GİRİŞ

Tüberküloz (Tbc) insanlığın ilk çağlarından beri rastlanan bir hastalık olmasına rağmen günümüzde halen önemli bir sağlık sorunudur. Dünya Sağlık Örgütü'nün verilerine göre her yıl üç milyon kişi tüberkülozdan ölmektedir. Tüberkülozun HIV enfeksiyonunun fırsatçı enfeksiyonları arasına girmiş olması soruna yeni bir boyut getirmiştir (1).

Günümüzde anamnez ve fizik muayene ile akciğer tüberkülozu düşünülen olgularda, radyolojik ve bakteriyolojik bulgularla tanı kesinleştirilmektedir. Tanıda altın standart ise basili kültür ortamında üretmek olup, bu yöntem 45 gün gibi uzun bir zaman almaktadır. Balgamda aside dirençli basilin boyama yöntemiyle tespit edilmesi ise % 50' den daha düşük oranlarda gerçekleşebilmektedir (2). Ayrıca ekstrapulmoner tüberküloz olgularında tanı konması hem zordur hem de uzun zaman alır (3). Bu nedenlerle daha hızlı ve daha güvenilir tanı yöntemleri araştırılmaktadır. ELISA'nın (Enzyme-Linked Immunosorbant Assay) geliştirilmesinden sonra tüberküloz hastalarında da Mycobacterium tuberculosis antijenine karşı antikorları saptayarak tanı konulabileceği üzerine çeşitli çalışmalar yapılmıştır (4-6).

A60 antijeni, molekül ağırlığı 106-107 Dalton olan bir lipopolisakarit-protein kompleksi olup mikobakteriyel sitoplazmanın major immünolojik komponentlerindedir. Tüberkülozda deri testi için kullanılan Old Tüberkülin (OT) ve saflaştırılmış protein derivativesi'nin (PPD) ısıya dayanıklı esas kısmıdır (7). Çalışmamızda, aktif ve inaktif akciğer tüberkülozlu olgular ile nonspesifik akciğer infeksiyonu olan olgularda A60 antijenine karşı oluşan IgG ve IgM düzeyleri saptanarak tanıdaki değerleri, tüberkülozun erken tanısında yaygın olarak kullanılan balgamda direkt basil aranması ile karşılaştırıldı.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

1999-2000 yıllarında Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı'na izlenen 21 aktif akciğer tüberkülozlu (Grup-1), 20 inaktif akciğer tüberkülozlu (Grup-2) ve 22 nonspesifik akciğer infeksiyonu (Kontrol) olan toplam 63 olgudan alınan serum örneklerinde M. bovis BCG A60 antijenine (ANDA-TB) karşı oluşan IgG ve IgM antikor düzeyleri üretici firmanın (ANDA Biologicals-France) belirttiği şekilde immunoloji laboratuvarında ELISA yöntemi ile ölçüldü. Optik Dansite (OD) otomatik mikropate okuyucusunda (ELX 800) saptandı. IgG için cut-off

değeri olarak hem üretici firmanın belirttiği şekilde 225 ünite hem de ülkemizde rutin BCG uygulaması düşünülerek kontrol grubumuzdan elde edilen değerlerin ortalamasına 2 standart sapma (SD) eklenilerek bulunan 254 ünite kabul edildi. IgM için ise kitin özelliğinden dolayı kantitasyon yapılamadı, sonuçlar (+) ve (-) olarak değerlendirildi.

Grup-I. Aktif Akciğer Tüberkülozlu Olgular: Klinik ve radyolojik olarak aktif akciğer tüberkülozu düşünülen 25 olgudan tedavi öncesi balgam ve serum örnekleri elde edildi. Serum örneklerinden IgG ve IgM düzeyleri ölçüldü. Balgam örneklerinden ise Loewenstein-Jensen besi yerine ekim yapıldı. Ayrıca direkt yaymaları yapılarak basil arandı. Kültür sonucu negatif olan 4 olgu çalışmadan çıkarıldı.

Grup-II. İnaktif Akciğer Tüberkülozlu Olgular: Anamnezinde geçirilmiş akciğer tüberkülozu olan ve akciğer grafilerinde tüberküloz sekeli ile uyumlu bulgular tespit edilen 21 olgudan elde edilen serum örneklerinden IgG ve IgM düzeyleri ölçüldü. Bu hastaların balgam direkt yaymalarında ARB negatif bulundu. Sadece 1 olguda kültürde üreme oldu ve bu olgu çalışma dışı bırakıldı.

Kontrol Grubu: 22 nonspesifik akciğer infeksiyonlu olgu kontrol grubunu oluşturdu.

Değerlerin istatistiksel analizinde SPSS v10.0 paket programı kullanıldı. Gruplar arası IgG ve yaş ortalamalarını karşılaştırmada Kruskal-Wallis ile Man Whitney-U testleri ve IgM sonuçlarının karşılaştırmasında ise khi-kare testinden yararlanıldı.

BULGULAR

Çalışma kapsamına alınan 63 olgunun demografik özellikleri tablo-I' de sunulmuştur.

Tablo I: Olguların demografik özellikleri.

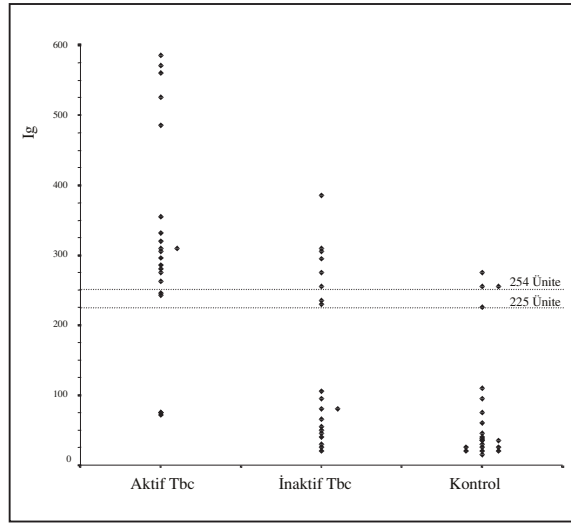
Gruplar	Olgu sayısı (n)	Cinsiyet (K/E)	Yaş ortalaması (Min-Max)
Grup-I	21	7/14	31.48±8.19 (20-50)
Grup-II	20	5/15	38.90±9.60 (23-60)
Kontrol	22	9/13	36.36±6.89 (25-51)
Toplam	63	21/42	35.54±8.69 (20-60)

Yaş ortalamaları açısından grup-I ile grup-II arasında fark varken (p=0.006), her iki grup kontrol grubu ile karşılaştırıldığında fark olmadığı gözlemlendi (p>0.05). Grupların direkt yayma, kültür, IgG ve IgM sonuçları Tablo-II de sunulmuştur.

Tablo II: Grupların direkt yayma, kültür, IgG ve IgM sonuçları.

Gruplar	n	Direkt yayma (-/+)	Kültür (-/+)	IgG (-/+) (Cut-off=254Ü)	IgG (-/+) (Cut-off=225Ü)	IgM (-/+)
Grup-I	21	7/14	0/21	6/15	4/17	15/6
Grup-II	20	20/0	20/0	14/6	12/8	17/3
Kontrol	22	22/0	22/0	19/3	18/4	19/3

Cut-off değeri 225 Ü alındığında grup-II'de 20 olgunun 8'inde (%40), kontrol grubunda da 22 olgunun 4'ünde (%18.18), 254 Ü alındığında ise grup II'de 20 olgunun 6'sında (%30), ve kontrol grubunda da 22 olgunun 3'ünde (%13.63) IgG antikorları pozitif bulunmuştur. IgM antikorları da grup-II'de 3 olguda (%15), kontrol grubunda da 3 olguda (%13.63) pozitif bulunmuştur. Farklı cut-off değerlerine göre her 3 gruptaki olguların dağılımı şekil-1'de gösterilmiştir.

**Şekil 1:** Farklı cut-off değerlerine göre her 3 gruptaki olguların dağılımı.

Gruplardaki IgG değerleri arasındaki istatistiksel ilişki tablo-III'de gösterilmiştir.

Tablo III: Gruplardaki IgG değerleri arasındaki istatistiksel ilişki.

	Grup I	Grup II	Kontrol
IgG Değerleri	322.095±152.205	149.0±120.804	79.977±87.011
	p=0.014		
	p<0.001		

Kalitatif olarak ölçülen IgM değerleri arasında ise gruplar arasında istatistiksel bir fark saptanamadı (p=0.393).

Aktif akciğer tüberkülozunun belirlenmesinde IgG, IgM ve direkt yaymanın sensitivite ve spesifite değerleri ise tablo-IV'de özetlenmiştir.

Tablo IV: Aktif akciğer tüberkülozunun belirlenmesinde IgG, IgM ve direkt yaymanın sensitivite ve spesifite değerleri.

	IgG (Cut-off=254 Ü)	IgG (Cut-off=225 Ü)	IgM	Direkt yayma
Sensitivite (%)	71.43	80.95	28.57	66.66
Spesifite (%)	86.37	81.82	86.37	100

TARTIŞMA

Halen dünyada önemli bir sağlık problemi olan Tbc'nin tanısında altın standart basılı kültür ortamında üretmek olup, bu yöntem 45 gün gibi uzun bir zaman almaktadır. Balgamin direkt bakışının sensitivitesi ile ilgili olarak da literatürde çeşitli sonuçlar bildirilmektedir. Örneğin Levy ve arkadaşları (8) %53.1, Kim ve arkadaşları (9) ise %74.4 olarak bildirmişlerdir. Çalışmamızda da balgam direkt bakışının sensitivitesi %66.66 olarak bulunmuştur. Ayrıca ekstrapulmoner tüberküloz olgularında tanı konması hem zordur hem de uzun zaman alır (3). Bu nedenlerle Tbc tanısı için daha hızlı ve daha güvenilir yöntemler araştırılmaktadır. ELISA'nın geliştirilmesinden sonra tüberküloz hastalarında da Mycobacterium tuberculosis antijenine karşı antikorları saptayarak tanı konulabileceği üzerine çeşitli çalışmalar yapılmıştır (4-6).

Delacourt ve arkadaşları (10) yayınladıkları bir çalışmada çocuk tüberkülozunun serolojik tanısında IgG'nin en faydalı immunglobulin olduğunu belirtmişlerdir. Tumeer ve arkadaşları (11) da akciğer tüberkülozlu hastalar ile normal sağlıklı kişilerde A60'a karşı IgG düzeylerini ölçmüşler ve akciğer tüberkülozlu olgularda sağlıklılara göre anlamlı olarak yüksek bulmuşlardır (p<0.001). Yine aynı çalışmada PPD pozitifliği ile A60'a karşı IgG pozitifliği arasında korelasyon tespit ettiklerini bildirmişlerdir.

Caminero ve arkadaşları (12) da 298 olguda A60 antijenine karşı oluşan IgG antikorlarını araştırmışlar sensitivitesini %52.2 spesifitesini %96 olarak bulmuşlardır. Sensitivitesi sonuçlarımızdan daha düşük, spesifitesi daha yüksektir. Bu durum bizim kontrol grubumuzda daha fazla yalancı pozitiflik olduğunu gösterir. Bunun da muhtemelen ülkemizde rutin BCG uygulamasına bağlı olabileceğini, dolayısıyla BCG'li

ve BCG'siz olgularda IgG'nin tanı değerini araştırmak için yeni çalışmalar yapılması gerektiğini düşündürmektedir.

Alifano ve arkadaşları (13) yayınladıkları çalışmalarında IgG pozitifliğini PPD (-) sağlam kişilerde 1/50, PPD (+) sağlam kişilerde 1/44, inaktif tüberkülozlu kişilerde 0/13, nonspesifik akciğer infeksiyonu olan kişilerde 3/22, balgam direkt yayması pozitif aktif akciğer tüberkülozlu olgularda 35/42, balgam direkt yayması negatif aktif akciğer tüberkülozlu olgularda 9/15, akciğer dışı tüberkülozlu olgularda 9/16 olarak bulmuşlardır. Bizim çalışmamızda aktif tüberküloz için kültür pozitifliği kriter alınmıştır. Cut-off değeri 225 Ü alındığında aktif tüberkülozlu olgularda IgG pozitifliği 17/21 (%80.95), tüberküloz dışı akciğer infeksiyonu olan olgularda (kontrol grubu) ise 4/22 (% 18.18) olarak bulunmuştur, 254 Ü cut-off değeri olduğunda ise bu değerler sırasıyla 15/21 (%71.43) ve 3/22 (%13.64) olarak bulunmuştur. Bu sonuçlar Alifano ve arkadaşlarının sonuçları ile oldukça benzerdir. 1996 yılında yayınladıkları 216 olgulu bir başka çalışmada ise aktif tüberkülozlu hastalarda IgG'nin sensitivitesini %73.9 spesifitesini %95.9 olarak bildirmişlerdir (14). Çalışmamızda da 250 ve 254 Ü cut-off değerine göre IgG sensitiveleri benzerdi. Zou ve arkadaşları (15) yaptıkları çalışmada IgG ve IgM için pozitifliği sırasıyla aktif primer akciğer tüberkülozlu olgularda %36 ve %80, aktif postprimer akciğer tüberkülozlu olgularda %88.5 ve %31, inaktif akciğer tüberkülozlu olgularda ise %41, %0 olarak saptamışlardır. Aynı çalışmada IgG için yanlış pozitiflik oranlarını sağlıklı kişilerde %0.38, Tbc dışı hastalığı olanlarda da %6.3 olarak bildirmişlerdir.

Steele ve arkadaşları (16) Tbc tanısında ELISA'nın balgam yayması ile eşdeğer sonuçlar verdiğini, balgam yayması elde edilebilen olgularda tanıya ilave bir katkısının olmadığını, balgam yayması elde edilemeyen olgularda tanıya faydalı olabileceğini bildirmişlerdir. Akoğlu ve arkadaşlarının (3) çalışmalarında da basil negatif aktif akciğer Tbc'li ve milyer Tbc'li hastalarda tanıya katkısı olduğu, ancak inaktif Tbc ve Tbc dışı akciğer hastalıklarında yüksek oranda yanlış pozitiflik saptanması nedeniyle tek başına tanı koymada yetersiz olacağı bildirilmiştir.

Chiang ve arkadaşları (17) Tbc'nin serolojik tanısında mevcut antijenlerin sensitivite ve spesifitesinin halen %80 civarında olduğunu bildirmiş ve zayıf bir tanısal metod olduğunu vurgulamışlardır.

Bengisun ve arkadaşları (18) aktif ve inaktif Tbc'li hastalarla, kontrol grubu olarak sağlıklı kişilerde yaptıkları çalışmada, kontrol grubunun ortalama değeri + 2 SD'yi sınır değeri olarak kabul etmişler, buna göre aktif tüberkülozlu olgularda IgG'nin sensitivitesini %52,

spesifitesini %88.5 olarak bulmuşlardır. IgG düzeyleri hem aktif hem de inaktif grupta kontrol grubuna nazaran daha yüksek bulunmuş, ancak aktif ve inaktif grup arasında istatistiksel fark olmadığı bildirilmiştir. Charpin ve arkadaşları (19) çalışmalarında IgG'nin sensitivitesini %48, spesifitesini %71, IgM'nin sensitivitesini %76, spesifitesini %98 olarak bildirmişlerdir. Sonuçlardan da görüleceği üzere araştırmacılar IgM için testin sensitivitesini daha yüksek bulmuşlardır. Bu çalışmada IgG ve IgM düzeylerinin beraberce çalışılmasının testin sensitivite ve spesifitesini artıracağı vurgulanmıştır.

Konu ile ilgili yapılan çalışmaların bazılarında serum IgM düzeyi hasta grubunda kontrol grubuna göre yüksek olarak bulunurken çalışmaların çoğunda anlamlı bir fark bulunamamıştır (20-23). Tüberkülozda humoral immun yanıt poliklonal hipergammaglobulinemi şeklindedir. Tüberküloz hastalarında serum IgM düzeylerinde artışın olmaması basil ile ilk karşılaşmada IgM tipi antikorların yükselmesi ve birkaç gün içerisinde hızla azalarak yerini IgG tipi antikorlara bırakması ile açıklanmıştır. Hatta postprimer tüberkülozda booster etki sonucu IgM tipi antikorlarda yükselme olmadan IgG tipi antikorların fazla miktarda ve hızla yükseldiği ifade edilmiştir (24,25). Çalışmamızda da serum IgM düzeylerinin sensitivitesinin düşük olduğu (%28.57) bulunmuştur.

Çalışmamızda kontrol grubuna göre cut-off değeri belirlenmek istendiğinde elde edilen değer üretici firmanın önerdiğinden daha yüksek olduğu bulundu. Tüberkülozun ülkemizde yaygın olmasına ve/veya rutin BCG aşısı yapılmasına bağlı olarak cut-off değerinin yükseldiği düşünülmektedir. Böylece kendi belirlediğimiz değer testin spesifitesini yükseltirken sensitivitesini düşürdüğü gözlemlendi.

Sonuç olarak, aktif akciğer Tbc'li olgularda IgG'nin balgam direkt bakısından daha yüksek sensitiviteye sahip olduğu görülmüştür. Ancak özellikle inaktif Tbc olgularında yüksek oranlardaki yanlış pozitif sonuçlar testin güvenilirliğini azaltmaktadır. Bu nedenle IgG pozitifliğinin aktif tbc tanısında tek başına yetersiz olacağı, yardımcı bir yöntem olabileceği, tüberkülin deri testi gibi yoruma açık olduğu, diğer bulgularla beraber değerlendirilmesi gerektiği düşünülmektedir. Ayrıca aktif - inaktif, BCG'li - BCG'siz olgular için farklı sınır değerlerin saptanması gerektiği kanısındayız.

KAYNAKLAR

1. Balcı K. Göğüs Hastalıkları. 3. Baskı, Konya: Atlas Kitabevi, 1993: 191-254.
2. Drowart A, Huygen K, De Bruyn J, et al. Antibody levels to

- whole culture filtrate antigens and to purified p32 during treatment or smear positive tuberculosis. *Chest* 1991;100:685-687.
3. Akoğlu SG, Sayan M, Uçan ES, et al. A60'a karşı IgG, IgM ve IgA'nın tüberkülozun serolojik tanısındaki değeri. *Tüberküloz ve Toraks* 1999;47:179-188.
 4. Krombovitis E. Detection of antibodies to Mycobacterium tuberculosis plasma membran antigen by enzyme linked immunosorbent assay. *J Med Microbiol* 1986;21:257-264.
 5. Maes R, Homasson JP, Kubin M, Bayer M. Development of enzyme immunoassay for the serodiagnosis of tuberculosis and mycobacterioses. *Med Microbiol Immunol* 1989;178:323-335.
 6. Van Vooren JP, Farber CM, De Bruyn J, Yemault JC. Antimycobacterial antibodies in pleural effusions. *Chest* 1990;97:88-90.
 7. Cocito C, Vanlinden F. Preparation and properties of antigen 60 from Mycobacterium bovis BCG. *Clin Exp Immunol* 1986;66:262-272.
 8. Levy H, Feldman C, Sacho H, et al. A reevaluation of sputum microscopy and culture in the diagnosis of pulmonary tuberculosis. *Chest* 1989;95:1193-1197.
 9. Kim TC, Blackman RS, Heatwole AM. Acid-fast bacilli in sputum smears of patients with tuberculosis: prevalence and significance of negative smears pretreatment and positive smears post-treatment. *Am Rev Respir Dis* 1984;129:264-270.
 10. Delacourt C, Gobin J, Gaillard JL, et al. Value of ELISA using antigen 60 for the diagnosis of tuberculosis in children. *Chest* 1993;104:393-398.
 11. Turner M, Van-Nerom E. Serological comparison of purified antigens 60 and 85A (p32) of Mycobacterium bovis BCG and purified protein derivative in active pulmonary tuberculosis. *Eur J Epidemiol* 1993;9:541-546.
 12. Caminero JA, Rodriguez de Castro F, Carillo T, et al. Value of ELISA using A60 antigen in the serodiagnosis of tuberculosis. *Respiration* 1994;61:283-286.
 13. Alifano M, Del Pezzo M, Lamberti C, et al. ELISA method for evaluation of anti-A60 IgG in patients with pulmonary and extrapulmonary tuberculosis. *Microbiologica* 1994;17:37-43.
 14. Alifano M, Sofia M, Mormile M, et al. IgA immune response against the mycobacterial antigen A60 in patients with active pulmonary tuberculosis. *Respiration* 1996;63:292-297.
 15. Zou YL, Zhang JD, Chen MH, et al. Serological analysis of pulmonary and extrapulmonary tuberculosis with enzyme linked immunosorbent assays for anti A60 immunoglobulins. *Clin Infect Dis* 1994;19:1084-1091.
 16. Steele BA, Daniel TM. Evaluation of the potential role of serodiagnosis of tuberculosis in a clinic in Bolivia by decision analysis. *Am Rev Respir Dis* 1991;143:713-716.
 17. Chiang H, Suo J, Bai KJ, et al. Serodiagnosis of tuberculosis. A study comparing three specific mycobacterial antigens. *Am J Respir Crit Care Med* 1997;156:906-911.
 18. Bengisun S, Çakır M, Zeydan E, et al. Tüberkülozun serolojik tanısında mikobakteriel antijen 60'ın yeri. 20. Yıl Akciğer Günleri Kongre Kitabı, 2-4 Kasım 1995, Bursa. Ed: Özyardımcı N. Uludağ Üniversitesi Basımevi, 1997;222-229.
 19. Charpin D, Herbault H, Gevaudan J, et al. Value of ELISA using A60 antigen in the diagnosis of active pulmonary tuberculosis. *Am Rev Respir Dis* 1990;142:380-384.
 20. Grange JM, Kardjito T, Setrabudi I. A study of acute-phase reactant proteins in Indonesian patients with pulmonary tuberculosis. *Tubercle* 1984;65:23-39.
 21. Samuel AM, Ashtekar MD. Significance of circulating immune complexes in pulmonary tuberculosis. *Clin Exp Immunol* 1984;58:317-324.
 22. Grange JM, Caplin M, Marley S, Brown RA. Relationship between radiological classification and the serological and haematological features of untreated pulmonary tuberculosis in Indonesia. *Tubercle* 1989;70:103-113.
 23. Wong CT, Saha N. Changes in serum proteins (Albumin, immunoglobulins and acute phase proteins) in pulmonary tuberculosis during therapy. *Tubercle* 1990;71:193-197.
 24. Bayol ÖY, Şipit T, Çiftçi TU, et al. Pulmoner tüberküloz tanısında IgG, IgA, IgM, C3 ve C4'ün yeri. *Solunum Hastalıkları* 2001;12:49-55.
 25. Maes RF. Clinical usefulness of serological measurements obtained by antigen 60 in mycobacterial infections. Development of a new concept. *Klin Wochenschr* 1991;69:696-699.