
Tüberküloz Menenjitte Beyin-omurilik Sıvısında Antijen 60'a Karşı Oluşan IgG Antikorlarının Tanı Değeri[#]

Serpil EROL*, Ali KAYA*, Şerafettin YILMAZ*

* Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Klinik Bakteriyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı, ERZURUM

ÖZET

Tüberküloz menenjit (TbM) tanısında, beyin-omurilik sıvısındaki (BOS) antimikobakteriyel antijen 60 (A60) IgG antikorlarının tanı değeri araştırıldı. TbM'li 18, pürülan menenjitli 18, viral menenjit veya meningoensefalitli 15, çeşitli nörolojik hastalığı olan 8 hasta ve değişik nedenlerle lomber ponksiyon yapıp normal BOS değeri gösteren 18 bireyden alınan BOS örneklerinde A60'a karşı oluşan IgG sınıfı antikorlar ELISA yöntemiyle araştırıldı. TbM'li hastaların 8'inde ve kontrol grubunu oluşturan diğer olguların 3'ünde anti-A60 IgG antikorları pozitif bulundu. Buna göre BOS'da bu antikorların gösterilmesinin %44.4 duyarlılık, %95.0 özgüllük, %72.7 pozitif belirleyici değer ve %84.8 negatif belirleyici değere sahip olduğu gösterildi.

Anahtar Kelimeler: Tüberküloz menenjit, Beyin-omurilik sıvısı, Antijen 60

SUMMARY

The Diagnostic Value of Cerebro-spinal Fluid IgG Antibodies to Antigen 60 in Tuberculous Meningitis

The diagnostic value of cerebro-spinal fluid (CSF) IgG antibodies to antigen 60 (A60) was investigated in patients with tuberculous meningitis (TbM). Patients and controls were as follows: 18 tuberculous meningitis, 18 purulent meningitis, 15 viral meningitis or meningoencephalitis, 8 different neurological disorders and 18 subjects in whom lumbar puncture was performed for different reasons and who have normal CSF values. Anti-A60 IgG antibody was positive in 8 of 18 TbM patients. False-positive tests in controls were 3. It was calculated that anti-A60 IgG test has a sensitivity of 44.4%, specificity of 95%, positive predictive value of 72.7% and negative predictive value of 84.8% in the diagnosis of tuberculous meningitis.

Key Words: Tuberculous meningitis, Cerebro-spinal fluid, Antigen 60

[#] Bu çalışma 8. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Kongresi'nde poster olarak sunulmuştur (6-10 Ekim 1997, Antalya).

Son yıllarda çeşitli nedenlere bağlı olarak tüm dünyada tüberküloz olgularının sayısında artış gözlenmektedir^[1,2]. Ülkemizde bildirimi yapılan tüberküloz olgularının %2.5'ini tüberküloz menenjit (TbM) oluşturmaktadır^[2]. TbM erken tanınıp zamanında tedaviye başlandığında tamamen iyileşebilen bir hastalık olmasına karşın kesin tanıyı koymak her zaman kolay olmamaktadır. Mikobakterilerin direkt tetkikle beyin-omurilik sıvısında (BOS) gösterilebilme olasılığı %10.0-40.0 arasında değişmektedir^[1,3,4]. Kültürde üretilbilme olasılığı ise %50.0'nin altında ve sıklıkla da %20.0 civarındadır^[1,5-7]. Kültürün bir olumsuz özelliği de geç sonuç vermesidir. Görüldüğü gibi TbM tanısında yayma ve kültür yeterince başarılı değildir. Bu nedenle tedavi sıklıkla klinik tanıya göre başlanır. Ancak bazı menenjit formları da bazen tüberküloz menenjiti taklit edebilir ve farklı tedaviler gerektirirler. Tüm bu nedenlerden dolayı TbM tanısında yeni ve daha hızlı yöntemlere ihtiyaç vardır^[8]. Son yıllarda TbM'nin hızlı tanısında BOS'da antijen ve antikor arayan serolojik çalışmalara ilgi artmıştır. Bu serolojik çalışmalarda, hızlı ve basit bir test olması nedeniyle ELISA oldukça ilgi görmüştür^[6-9].

Serolojik çalışmalarda kullanılan antijenlerden biri olan antijen 60, mikobakterilerin termostabil, makromoleküler antijen ailesinin bir üyesi olup PPD ve old tüberkülinin ana komponentini oluşturur^[10-13]. Biz çalışmamızda hızlı tanıda yararlı olup olmadığını incelemek amacıyla TbM'li hastaların BOS'larında bu antijene karşı oluşan IgG sınıfından antikorları araştırdık.

MATERYAL ve METOD

Çalışmamıza anamnez, klinik bulgu ve laboratuvar özelliklerine göre TbM tanısı alan 18 olgu (Grup 1) ve 59 bireyden oluşan kontrol grubu [18 pürülan menenjit (Grup 2), 15 viral menenjit veya meningoensefalit (Grup 3), epilepsi, serebral infarkt, multiple skleroz, subaraknoidal kanama gibi çeşitli nörolojik hastalıkları olan 8 olgu (Grup 4) ve çeşitli nedenlerle lomber ponksiyon yapıp BOS bulguları tamamen normal olan 18 olgu (Grup 5)] alındı. TbM'li hastaların BOS örnekleri tedaviye başlanmadan hemen önce veya tedavinin ilk üç gününde alınmıştır.

Antikorların Araştırılması

BOS'da mikobakteriyel antijen 60'a karşı oluşan IgG sınıfından antikorlar ticari bir kit (Anda-tb Mycobacteria IgG, Anda Biologicals, Strasbourg-France) kullanılarak ELISA tekniği ile araştırıldı. BOS örnekleri 1/10 oranında dilüe edilerek kullanıldı.

ELISA'dan elde edilen sonuçları değerlendirmek için cut-off değeri "Kontrol gruplarının aritmetik ortalaması + 2 standart sapma" formülü ile belirlendi. Bu da 0.220 optik dansiteye (O.D.) denk geliyordu. Cut-off üzerindeki değerler pozitif, altındaki değerler negatif olarak kabul edildi.

1. Sonucun etkinliği (test edilenler içinde doğru şekilde sınıflandırılanların oranı): $[(\text{Gerçek pozitif test sayısı} + \text{gerçek negatif test sayısı}) / \text{toplam test sayısı}] \times 100$,

2. Sonucun hatası (test edilenler içinde yanlış şekilde sınıflandırılanların oranı): $[(\text{yalancı negatif test sayısı} + \text{yalancı pozitif test sayısı}) / \text{toplam test sayısı}] \times 100$, formülü ile hesaplanmıştır.

SONUÇLAR

Her bir gruba ait ELISA testi sonuçları Tablo 1'de, TbM ve tüm kontrol gruplarına ait ELISA sonuçları Tablo 2'de ve bu sonuçlara göre testin tanı değeri de Tablo 3'te gösterilmiştir. Pozitif test sayısı Grup 1'de 8, Grup 2'de 1, Grup 3'te 1 ve Grup 4'te 1 olarak bulundu. Buna göre: gerçek pozitiflik 8/18, yalancı negatiflik 10/18, yalancı pozitiflik 3/59, gerçek negatiflik 56/59 olarak bulundu. Bu sonuçlara göre ELISA'nın tanı değeri şöyleydi: duyarlılık %44.4, özgüllük %95.0, pozitif belirleyici değer %72.7, negatif belirleyici değer %84.8, sonucun etkinliği %83.0, sonucun hatası %16.8.

Çalışma grubumuzdaki 18 TbM'li hastanın sadece 3'ünün (%16.6) BOS kültüründe *Mycobacterium tuberculosis* üretilbildi.

TARTIŞMA

TbM'nin kesin tanısı, etkeni BOS'da üretmek veya direkt tetkikte göstermekle konduğu halde, bakteriyolojik olarak kanıtlanmış olguları istatistiksel açıdan yeterli sayıda bulmak her zaman mümkün olmadığından biz de bir çok araştırmacı gibi sadece klinik olarak tanı konmuş hastaları da çalışmamıza aldık.

TbM tanısında ELISA ile antikor arayan çalışmalarda farklı duyarlılık ve özgüllük değerleri bildirilmektedir. Bu değerler kullanılan antijen, seçilen cut-off, BOS dilüsyon oranları, kontrol gruplarının farklılığı ve test edilen popülasyondaki hastalık prevalansına göre değişmektedir. Kullanılan antijen ne kadar pürifiye ise özgüllüğün de o kadar arttığı bildirilmektedir^[6,9,12]. Yüksek prevalansın ise daha doğru pozitif test sonuçlarına ve daha iyi bir pozitif belirleyiciliğe yol açtığı belirtilmektedir^[9]. Cut-off değerinin belirlenmesinde üretici firmanın önerdiği değerler standart olmakla birlikte, kontrol gruplarının aritmetik

Tablo 1. Grupların ELISA testi sonuçları

	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	Grup 5	Toplam
• Gerçek pozitif test sayısı	8	-	-	-	-	8
• Yalancı negatif test sayısı	10	-	-	-	-	10
• Yalancı pozitif test sayısı	-	1	1	1	-	3
• Gerçek negatif test sayısı	-	17	14	7	18	56
• Toplam	18	18	15	8	18	77

Tablo 2. Tüberküloz menenjit ve kontrol grubuna ait olguların ELISA testi sonuçları

ELISA	Tüberküloz menenjit		Kontrol*		Toplam	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
• Pozitif	8	44.4	3	5.1	11	14.3
• Negatif	10	55.6	56	94.9	66	85.7
• Toplam	18	100	59	100	77	100

* Kontrol grubu, grup 2,3,4 ve 5'teki olguları içermektedir.

Tablo 3. ELISA testinin tanı değeri

	%
• Duyarlılık	44.4
• Özgüllük	95.0
• Pozitif belirleyici değer	72.7
• Negatif belirleyici değer	84.8
• Sonucun etkinliği	83.0
• Sonucun hatası	16.8

ortalamasının 2 standart sapma üzerindeki değerlerin daha güvenilir olduğunu belirten ve bu kriteri kullanan araştırmacılar vardır^[6,9,14]. Cortes ve arkadaşları A60'a karşı oluşan antikorları TbM'li hastaların BOS'larında araştırmışlar ve tedavinin ilk 10 gününde %30.7 olarak buldukları antikor pozitifliği oranlarının tedavinin 45. gününe kadar %50.0'ye yükseldiğini bildirmişlerdir^[7]. Non-tüberküloz menenjitlilerden oluşan kontrol grubunda %16.0 oranında yalancı pozitiflik saptarken, normal BOS değerlerine sahip bireylerden oluşan kontrol grubunda hiç yalancı pozitiflik saptamamışlardır. Biz ise non-tüberküloz menenjitlilerde (pürülan menenjit ve viral menenjit-meningoensefalit) 2/33 (%6) yalancı pozitiflik saptadık. Normal BOS değerlerine sahip bireylerden oluşan grupta ise bu oran 1/18 (%5.5) idi. Onların seçtikleri cut-off üretici firmanın önerdiği değer oldu-

ğundan bizimkinden farklıydı. Onlar menenjit grubundaki bu yüksek yalancı pozitifliği, toplumdaki yüksek tüberküloz prevalansına bağlı olarak antikorların, inflamasyon etkisiyle bozulan kan-beyin bariyerinden BOS'a pasif difüzyonuna bağlıyorlar. Çetinkaya ve arkadaşları da 19 TbM olgusunda aynı antikorları araştırmışlar, %47.0 duyarlılık, %96.0 özgüllük, %19.0 pozitif belirleyici değer, %87.0 negatif belirleyici değer rapor etmişlerdir^[6]. Bu durumda testin negatif sonuç vermesinin pozitif sonuç vermesine göre TbM tanısından uzaklaştırması nedeniyle daha anlamlı olacağını savunmuşlardır. Bizim değerlerimiz de genelde Çetinkaya ve arkadaşları ile uyumlu idi. Ancak onların pozitif belirleyicilik oranları bizimkinden daha düşüktü. Onlar bu oranı Bayes teoremine göre, biz ise Daniel'in önerdiği formüle göre hesapladık.

TbM'li hastaların bazılarında ELISA ile negatif test sonucu alınmaktadır. Biz de çalışmamızda %55.5 oranında yalancı negatiflik saptadık. Yalancı negatiflikler immün kompleks oluşumu ve oluşmuş antikorların zayıf affinitesine bağlanmaktadır^[12,13]. Ağır immün süpresyon, ilgili antijene cevap veren antikorların spesifik inhibisyonu, antijenlerin makrofajlarca yüksek oranda etkin indirgenmesi ve genetik olarak belirlenmiş zayıf hümmoral yanıt da yalancı negatifliğin nedenleri olarak gösterilmektedir. Bazen çok ilerlemiş hastalığı olanlarda antikorların olmadığı ve ilerleyen yaşla birlikte antikor yanıtının progre-

sif olarak azaldığı bildirilmektedir^[15]. Yalancı pozitifliklere neden olan durumların başında ise kullanılan antijenlerin saflığı gelir^[9]. Kaba antijenler kullanıldığında çapraz reaksiyon oranları yüksektir. Mikobakteriler ile ortak antijenler içermesinden dolayı bazı mikroorganizmalarla oluşan infeksiyonlarda (Atipik mikobakteri, *M. leprae*, *Nocardia*, *Leishmania*, *Corynebacterium*) ve diğer bazı hastalıklarda (sarkoidoz, Crohn hastalığı, kistik fibrozis ve bazı kanser türleri) da yalancı pozitiflik görülebilmektedir^[12,13,15]. Dole ve arkadaşları vücudun başka bir yerinde tüberküloz bulunmasının yalancı pozitifliğe neden olmadığını, sonuçların yaş, cinsiyet, beslenme durumu ve BCG aşılamaından etkilenmediğini bildirmektedirler^[16]. Gerçekten Cortes ve arkadaşları da çalışmalarında kan-beyin bariyeri permeabilitesi bozulmamış olan merkezi sinir sistemi dışında tüberkülozu bulunan 8 hastanın hiçbirinin BOS örneklerinde bu antikorları saptamamışlardır. Kan-beyin bariyerinin çeşitli nedenlerle bozulduğu durumlarda serumdan pasif diffüzyonla BOS'a geçen antikorların oluşturduğu yalancı pozitiflik gerçekten intratekal sentezlenen antikorların oluşturduğu pozitiflikten ayırdedilebilir. Bunun için serum ve BOS antikor düzeyleri aynı anda bakılarak, BOS antikor titresi/serum antikor titresinin, BOS albumini/serum albuminine oranı hesaplanır. Bu oranın 0.8'in üzerinde olması intratekal sentezi gösterir^[7]. Ülkemizde yapılan iki ayrı çalışmada Öztürk ve Rota, PPD deri testi cevabının ELISA sonuçlarını etkilemediğini bildirmektedirler^[17,18].

Yalancı pozitif sonuçlar yalancı negatiflere göre daha sakıncalı bulunmaktadır. Çünkü yalancı pozitif bir sonuç hekimi tanıya yönelik çalışmalardan alıkoymuş gibi uygunsuz tedaviye başlanmasına da yol açar. Yalancı negatif bir sonuç ise hekimin tanıya yönelik çalışmalarının devam etmesine engel değildir. Bu nedenle düşük özgüllük oldukça tehlikeli iken, düşük duyarlılık daha kabul edilebilir bir durumdur.

ELISA ile elde edilen değerler TbM'nin kesin tanı kriteri olan kültür pozitifliği oranları ile karşılaştırıldığında BOS'da antikor aramanın TbM tanısında yardımcı olabileceği görülmektedir. Anti-A60 antikorlarının araştırıldığı ELISA testinin akciğer tüberkülozu tanısında da faydalı bir test olduğu bildirilmektedir^[19].

Yeni önerilen bir testin değerlendirilmesinde pozitif belirleyiciliğin doğruluğu ve negatif belirleyiciliğin doğruluğu gibi özelliklerin duyarlılık ve özgüllükten daha önemli olduğu bildirilmektedir^[20]. Bizim negatif belirleyici değerimiz pozitif belirleyici değeri-

mizden daha yüksekti. Yani negatif bir test sonucu alındığında TbM tanısından uzaklaşma olasılığı daha yüksekti. Ancak %55.5'lik yalancı negatiflik oranımız da dikkate alındığında negatif bir testin klinisyeni TbM tanısından tamamen uzaklaştıramayacağı konusunda dikkatli olmak kaydıyla, klinik ve diğer laboratuvar bulguları ile birlikte değerlendirildiğinde BOS'da anti-A60 IgG saptanmasına yönelik ELISA testinin TbM tanısında yararlı bir "yardımcı test" olabileceği kanısındayız.

KAYNAKLAR

1. Wilke A. Tüberküloz menenjitin Türkiye'deki durumu, klinik özellikleri ve tanı yöntemleri. In: İnci R, Hilmioğlu S, Tümbay E (eds). IV. Ulusal İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi, Kongre Tutanakları. İzmir: Ege Üniversitesi Basımevi, 1993:237-48.
2. Barış İ. Son bilgiler ışığında tüberküloz. İnfek Bült 1996;1:23-9.
3. Molavi A, Le Frock JL. Tuberculous meningitis. Med Clin North Am 1985;69:315-31.
4. Daniel TM. New approaches to the rapid diagnosis of tuberculous meningitis. J Infect Dis 1987;155:599-602.
5. Radnakrishnan VV, Mathai A, Thomas M. Correlation between culture *Mycobacterium tuberculosis* and antimycobacterial antibody in lumbar, ventricular and cisternal cerebrospinal fluids of patients with tuberculous meningitis. Indian J Exp Biol 1991;29:845-8.
6. Çetinkaya F, Fincancı M, Kazgöl N. Tüberküloz menenjitte beyin-omurilik sıvısında antijen 60'a karşı oluşan IgG sınıfı antikorların tanı değeri. Klimik Derg 1992;5:154-8.
7. Cortes LFL, Perez MCN, Mateos JG, Hernandez DJ, Mejias EJ, Diaz JP. Antibodies to antigen 60 in cerebrospinal fluid from patients with tuberculous meningitis. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1994;13:490-5.
8. Watt G, Zaraspe G, Bautista S, Laughlin LW. Rapid diagnosis of tuberculous meningitis by using an enzyme-linked immunosorbent assay to detect mycobacterial antigen and antibody in cerebrospinal fluid. J Infect Dis 1988;158:681-6.
9. 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.
10. Cocito C, Valinden F. Preparation and properties of antigen 60 from *Mycobacterium bovis* BCG. Scand J Immunol 1986; 24:591-602.
11. Cocito C, Baelden MC, Benoit CH. Immunological properties of antigen 60 of BCG. Scand J Immunol 1987;25:579-85.
12. Maes R. Clinical usefulness of serological measurements obtained by antigen 60 in mycobacterial infections: Development of a new concept. Klin Wochenschr 1991; 69:696-709.
13. Cocito C. Properties of the mycobacterial antigen complex A60 and its applications to the diagnosis and prognosis of tuberculosis. Chest 1991;100:1687-93.

14. Zou YL, Zhang JD, Chen MH, Shi GQ, Prignot J, Cocito C. Serological analysis of pulmonary and extrapulmonary tuberculosis with enzyme linked immunosorbent assay for anti-A60 immunoglobulins. Clin Infect Dis 1994; 19:1084-91.
15. Grange JM. The humoral immune response in tuberculosis: its nature, biological role and diagnostic usefulness. Adv Tuberc Res 1984;21:1-78.
16. Dole M, Maniar P, Lahiri K, Shah MD. Enzyme-linked immunoassay for the detection of *Mycobacterium tuberculosis* specific IgG antibody in the cerebrospinal fluid in case of tuberculous meningitis. J Trop Pediatr 1989; 35:218-20.
17. Öztürk R. Mikobakterilerin sonike edilmiş adsorbe antijeni ve purifiye protein derivesi kullanılarak yapılan ELISA ile akciğer tüberkülozunun serolojik tanısı. Mikrobiyol Cem Derg 1993;23:84-90.
18. Rota S, Beyazova U, Karşılçıl T, Cevheroğlu C. Humoral immun response against antigen 60 in BCG vaccinated infants. Eur J Epidemiol 1994;10:713-8.
19. Rota S, Karşılçıl T, Nadirler F, Göktay İ, Yener O. Akciğer tüberkülozu, tüberküloz dışı akciğer hastalıkları ve normal kişilerde anti-A60 antikorlarının araştırılması. Mikrobiyoloji Cem Derg 1996;26:105-8.
20. Kocabaş A. Günümüzde ve gelecekte tüberküloz tanısı. In: Kocabaş A (ed). Tüberküloz Kliniği ve Kontrolü, Adana: Çukurova Üniversitesi Basımevi, 1991:243-62.

Yazışma Adresi:

Yrd. Doç. Dr. Serpil EROL

Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi

Klinik Bakteriyoloji ve İnfeksiyon

Hastalıkları Anabilim Dalı

ERZURUM

Makalenin Geliş Tarihi: 15.02.1998 Kabul Tarihi: 21.10.1998

ERCIYES ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
17. GEVHER NESİBE TIP GÜNLERİ
HASTANE İNFEKSİYONLARI SİMPOZYUMU
20-22 Nisan 1999 - KAYSERİ

Müracaat: Doç. Dr. Bülent SÜMERKAN

Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Merkez Laboratuvarı

38039 - KAYSERİ

Tel: 0352. 437 49 01 / 2472 • Faks: 0352. 437 85 52