

Aktif Akciğer Tüberkülozlu Olgularda Hızlı İmmünokromotografik Testin (ICT) Tanısal Değeri

Onur Fevzi Erer¹, Can Biçmen², Cenk Kıraklı¹, Serir Aktoğu¹, Nermin Florat², Gültekin Tibet¹

¹Göğüs Hastalıkları ve Tüberküloz Kliniği, ²Bakteriyoloji Laboratuvarı
İzmir Göğüs Hastalıkları ve Cerrahisi Eğitim Hastanesi

ÖZET

İmmünokromotografik test (ICT), tüberkülozun serolojik tanısına yönelik bir inceleme yöntemi olup, bir membran boyunca immobilize edilmiş *M. tuberculosis* 38kDa'luk antijenlerine karşı oluşan IgG tipindeki antikorların koloidal altın partikül tekniği ile araştırılması ilkesine dayanmaktadır. Bu çalışmada, bakteriyolojik (direkt mikroskopi pozitifliği ve kültür pozitifliği), radyolojik ve klinik olarak tanısı konmuş aktif akciğer tüberkülozlu 43 olgu ile, tüberküloz dışı solunum sistemi hastalığı olan 20 kontrol olgusu incelenmiştir. Hasta serumları bekletilmeksizin ICT (ICT Diagnostics, Avustralya) hazır kitleri kullanılarak prosedüre uygun olarak çalışılmıştır. Kırk üç aktif akciğer tüberkülozlu olgunun 20'sinde pozitif sonuç, kontrol grubunda incelenen 20 olgunun tamamında ise negatif sonuç saptanmıştır. Testin duyarlılığı %46.5, özgüllüğü %100, tanısal doğruluğu %63.4 olarak değerlendirilmiştir. Ayrıca, hastalık süresinin ve radyolojik yaygınlığın artması ile pozitif sonuçların da arttığı tespit edilmiştir. Sonuç olarak, tek başına yeterli tanısal değeri olmamasına karşın, altın standart olarak kabul edilen bakteriyolojik testlerin yanında tanıya yardımcı olarak kullanılabilirliği düşünülmektedir.

Anahtar sözcükler: Tüberküloz, ICT, serolojik tanı.

Toraks Dergisi, 2001;2(1):80-84

ABSTRACT

Diagnostic Value of a Rapid Immunochromotographic Test (ICT) in Patients With Active Pulmonary Tuberculosis

Immunochromotographic test (ICT) is a rapid membrane-based serologic assay using 38-kDA antigen from *M. tuberculosis* for the diagnosis of tuberculosis. It is based on the principle that Ig G type of antibodies against *M. tuberculosis* antigens immobilized beyond a membrane are detected by a colloidal gold particle technique. In this study, 43 patients with active pulmonary tuberculosis and 20 control patients with pulmonary infections other than tuberculosis were analyzed. The patients with active pulmonary tuberculosis were diagnosed by means of bacteriological (positive smear and culture), radiological and clinical signs. Sera from the patients were tested by ICT commercial kits (ICT Diagnostics, Australia) according to the procedure provided by the manufacturer. ICT was found positive in 20 of 43 patients with active pulmonary tuberculosis and was found negative in all of the sera from patients in the control group (n=20). The sensitivity, the spesificity and the accuracy of the test were evaluated as 46.5%, 100% and 63.4%, respectively. However, the higher percentage of positive results has been obtained due to increasing antibody titers as the period of the illness and the severity of the radiological signs increased. In conclusion, although ICT does not have a diagnostic value when it is used alone, it is thought that it could be a useful method when it is used together with the bacteriological gold standart methods in the diagnosis of tuberculosis.

Key words: Tuberculosis, ICT, serological assay.

Yazışma adresi: Dr. Onur Fevzi Erer
İzmir Göğüs Hastalıkları ve Cerrahisi Eğitim Hastanesi, 35110 İzmir
Tel: (0232) 433 33 33 / 241
Faks: (0232) 458 72 62
e-posta: onurerer@yahoo.com

GİRİŞ

Tüberkülozun (TB) temel tanısı, bakterinin bakteriyolojik yöntemlerle ya da kültürde üretilerek tanınmasıdır. Ancak direkt mikroskopik incelemelerdeki duyarlılığın kısmen düşük olması, kültür sonucunun geç elde edilmesi tanısal süreçte olumsuzluklara yol açmaktadır. Ayrıca son yıllarda geliştirilen tüberküloz ile ilgili moleküler yöntemler pahalı ve karmaşık teknikler gerektirmesi nedeniyle pratik uygulamaya geçirilememektedir [1]. Bu nedenle hastalığın tanısında serolojik testlere gereksinim olduğu düşüncesiyle pek çok araştırma yapılmaktadır [2-4]. Tüberkülozda serolojik yöntemlerin kullanılmasını kısıtlayan en önemli neden yeterli duyarlılık ve özgüllüğün olmamasıdır. Yeterli tanısal verimliliğin sağlanamamasının en önemli nedenleri, kullanılan testlerin çoğunda antijen olarak kültür filtratları, saflaştırılmış protein türevleri, ya da bütünlüğü bozulmamış hücreler kullanılmış olmasıdır. Ancak, son yıllarda gelişen teknik olanaklara bağlı olarak daha saf antijenler elde edilmeye başlanmıştır. Antijenlerin saflıkları ile doğru orantılı olarak da daha yüksek tanısal verimlilikler sağlanmaktadır [5].

Çalışmamızdaki amaç, aktif akciğer tüberkülozlu (Ac TB) olgularda oldukça pratik bir uygulama tekniği olan, tüberküloz basilinin lipid membranlarında bulunan 38kDa'luk son derecede iyi saflaştırılmış antijenlere karşı oluşan İgG tipindeki antikorları tespit eden kart testin tanısal değerini araştırmaktır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Olguların seçimi

Aktif akciğer tüberkülozlu olgular ile kontrol grubu olarak tüberküloz dışı solunum sistemi hastalığı olan olgular çalışmaya alınmıştır.

Aktif akciğer tüberkülozlu olgu seçim kriterleri şunlardır:

1. Klinik, radyolojik ve bakteriyolojik (direkt mikroskopi pozitifliği ve kültür pozitifliği) olarak ilk defa akciğer tüberkülozu tanısı konan,
2. Ek bir hastalığı olmayan olgular çalışmaya alınmıştır.

Kontrol grubu olgu seçim kriterleri şunlardır:

1. Klinik, radyolojik ve bakteriyolojik (direkt mikroskopi negatifliği ve kültür negatifliği) olarak aktif akciğer tüberkülozunun dışlandığı,
2. Diğer tanısal yöntemlerle ve tedaviye alınan yanıtla kesin tanısı konan,
3. Tüberküloz tanı ve tedavi öyküsü olmayan,
4. Tüberkülin testi 10 mm üzerinde olan,
5. İmmüno-supresif tedavi kullanmayan olgular çalışmaya alınmıştır.

İmmünokromotografik testin uygulaması

Hastalardan tanının konduğu ilk hafta içinde kubital ven yoluyla kan alınarak bekletilmeksizin laboratuvara gönderilmiştir.

Testin temel prensibi, M. tuberculosis lipid membranında bulunan 38kDa'luk antijenin epitopları kullanılarak, koloidal altın partikül tekniği aracılığı ile İgG tipindeki antikorları saptamaktır.

Test uygulamasında, kit prospektüs bilgilerine uyulmuştur (ICT Diagnostics, Australia, catalogue no: TB01).

Bu işlem için kart açılıp beyaz-pembe yastıkçığın olduğu tarafa 2 damla konjugat, diğer mavi tarafa ise 300 mikrolitre aynı gün alınmış kandan ayrılmış taze serum eklenmiştir. Kart test hemen kapatılıp 15 dakika beklemeye bırakılmıştır. Süre bitiminde pozitif çizgilere bakılarak, test, pozitif veya negatif olarak değerlendirilmiştir.

Toplanan veriler

Tüm olguların yaş, cinsiyet ve ICT sonuçları kaydedilmiştir. Ayrıca, aktif akciğer tüberkülozlu olgular hastalık süresi ve radyolojik yaygınlık açısından da değerlendirilmiştir.

Hastalık süresi, anamnez bulgularına göre 1 aydan uzun süredir yakınmaları olan ve 1 aydan kısa süreli yakınmaları olan olgular olarak ikiye ayrılmıştır.

Radyolojik yaygınlık, her iki akciğer alanlarında bulunan lezyonların toplam alanı bir akciğer alanından fazlaysa veya kaviterin toplam çapı 4 cm'den fazla ise olgu yaygın hastalık, tarif edilenden daha az lezyonu olan olgular sınırlı hastalık olarak değerlendirilmiştir [6].

İstatistik

Çalışmamızda istatistiksel değerlendirmeler, SPSS (Statistical Package for Social Science) versiyon 7.5 programı ile yapılmıştır. Sınıflandırılmış verilerin karşılaştırmasında Fisher-exact test, sürekli verilerin ortalamasının karşılaştırılmasında Mann-Whitney U test kullanılmıştır. Alfa değeri 0.05 olarak kabul edilmiştir.

BULGULAR

Çalışmaya, aktif akciğer tüberkülozlu 43 olgu ile tüberküloz dışı solunum sistemi hastalığı olan 20 kontrol grubu olgusu alınmıştır. Kontrol grubu olguları, pnömoni (n=12), kronik obstrüktif akciğer hastalığı akut alevlenme (n=5), bronşiektazi (n=3) tanıları almıştır.

Tablo 1'de aktif akciğer tüberkülozlu olgularla, kontrol grubu olgularının cinsiyet dağılımı ve yaş ortalamaları gösterilmiştir. Her iki grup arasında cinsiyet dağılımı ve yaş ortalamaları açısından istatistiksel olarak fark saptanmamıştır (p>0.05).

Aktif akciğer tüberkülozlu olgularda hastalık süreleri incelendiğinde, '1 aydan kısa süreli' hastalığı olanların oranı

Tablo 1. Olguların yaş, cinsiyet dağılımı ve yaş ortalamaları.

	Yaş			Toplam olgu
	Erkek	Kadın	Ortalama ± SS	
Ae TB*	30	13	42.7 ± 13.0	43
Kontrol*	14	6	47.2 ± 13.9	20
Toplam olgu	44	19	44.1 ± 13.3	63

Aktif akciğer tüberkülozu olgularıyla kontrol grubu olguları arasında cinsiyet oranları ve yaş ortalamaları arasında istatistiksel anlamlı farklılık yoktur. (* tüm veriler için p>0.05)

Tablo 3. ICT tamsal değerlendirmeleri.

Duyarlılık	%46.5
Özgüllük	%100
Pozitif tahmin değeri	%100
Negatif tahmin değeri	%46.5
Tamsal doğruluk	%63.4

%37.2 (n=16), '1 aydan uzun süreli' hastalığı olanların oranı da %62.8 (n=27) olarak saptanmıştır. Radyolojik yaygınlık açısından olguların %41.9'u (n=18) 'sınırlı', olguların %58.1'i (n=25) 'yaygın' olarak değerlendirilmiştir. Her iki parametre birlikte incelendiğinde hastalık süresi ile radyo-

Tablo 2. Hastalık süresi ve radyolojik yaygınlığa göre olguların dağılımı.

Süre	Radyoloji					
	Sınırlı		Yaygın		Toplam	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
1 aydan kısa	12	27.9	4	9.3	16	37.2
1 aydan uzun	6	13.9	21	48.8	27	62.8
Toplam	18	41.9	25	58.1	43	100

Tablo 4. Hastalık süresi ve radyolojik yaygınlığa göre test sonuçlarının olgu sayısına göre dağılımı.

ICT	Hastalık süresi		Radyolojik yaygınlık	
	1 aydan kısa (olgu sayısı)	1 aydan uzun (olgu sayısı)	Sınırlı (olgu sayısı)	Yaygın (olgu sayısı)
Pozitif	4	16	4	16
Negatif	12	11	14	9

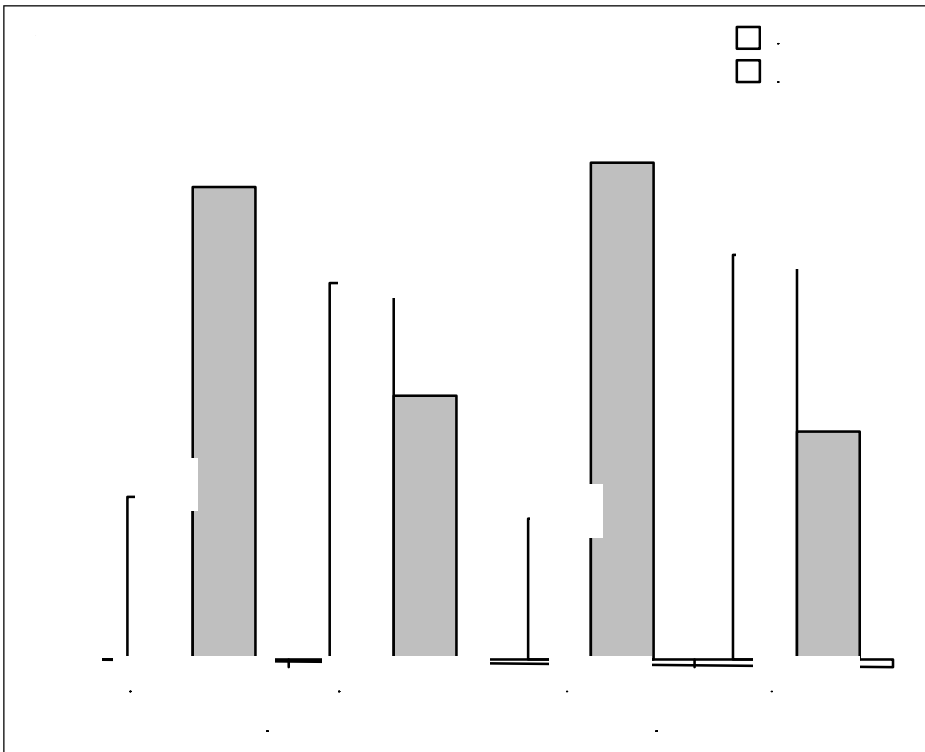
lojik yaygınlık arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olduğu görülmektedir (Tablo 2). Olguların büyük çoğunluğunda (n=33, %76.7) 'sınırlı hastalık' - '1 aydan kısa süre' birlikteliği (n=12, %27.9) ya da 'yaygın hastalık - 1 aydan uzun süre' birlikteliği (n=21, %48.8) mevcuttur (p=0.001).

Aktif akciğer tüberkülozlu olguların 20'sinde ICT pozitif bulunurken kontrol grubu olgularının hiçbirinde test pozitifliği saptanmamıştır (p<0.000). Testin tamsal değerini gösteren parametreler Tablo 3'te gösterilmiştir.

Hastalık süresi '1 aydan kısa' olanların %25'inde (n=4) test pozitifken, hastalık süresi '1 aydan uzun' olanların %59.3'ünde (n=16) test pozitifliği vardır (p=0.03). Radyolojik olarak yaygın hastalığı olanların %64'ünde (n=16), sınırlı hastalığı olanların %22.2'sinde (n=4) test pozitifdir (p=0.008) (Tablo 4 ve Şekil 1).

TARTIŞMA

Şekil 1. Hastalık süresi ve radyolojik yaygınlığa göre test sonuçlarının % dağılımı. Hastalık süresi ve radyolojik yaygınlık arttıkça test pozitifliği artış göstermektedir. (* p=0.03, **p=0.008)



Aktif akciğer tüberkülozlu olgularda etkili, güvenli ve çabuk tanıya gitmek çok önemlidir. Direkt mikroskopide duyarlılığın düşük olması, kültürün geç sonuç vermesi ve moleküler yöntemlerin pahalı olması nedeniyle serolojik tanıya gitmek her zaman ilgi çekici olmuştur. Serolojik yöntemler aslında tüberküloz tanısı için kullanılmaya başlanmış en eski yöntemlerdendir. İlk kez 1898 yılında hasta serumları ile *M. tuberculosis* hücrelerinin aglutinasyonu araştırılmıştır [7]. O yıllardan beri serolojik yöntemlerin kullanılmasını kısıtlayan en önemli neden yeterli tanısal verimlilik elde edememektir. Son yıllarda, aktif ve gelişen tüberküloz basiliinin protein yapılarının konak immünitesinde önemli bir rol oynadığının net bir şekilde ortaya konması ve gelişen teknoloji ile daha saf antijenlerin elde edilmesiyle, bu konuda yeniden yoğun araştırmalar yapılmaya başlanmıştır [8].

Tüberküloz basiliinin lipid membranında bulunan 38 kDa'luk antijenin immün yanıtta önemli bir rol oynadığının ve en immün-potent antijenlerden olduğunun ortaya çıkması ile bu antijenle ilgili yayınlar artmaya başlamıştır [9,10]. 38 kDa antijenine karşı oluşan İgG tipindeki antikorları tespit etmek için yapılan ilk çalışmalarda ELISA yöntemi kullanılmıştır. Jaccett ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada balgam ARB pozitif olgularda en fazla 38kDa antijenine karşı oluşan antikorların bulunduğunu bildirmişlerdir [11]. Bothamley ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada 38kDa antijenine karşı oluşan antikor titrelerinin ölçümünün hastalığın tanısında %80 duyarlılığa %100 özgüllüğe sahip olduğu bulunmuştur [12]. Chiang ve ark.'nın 1997 yılında yaptıkları çalışmada A60, Kp90 antijenleri ile 38kDa antijeni tanısal amaçlı karşılaştırılmış, duyarlılığı %64, özgüllüğü %80 olarak saptanmıştır. Bu değerler A60 ile yaklaşık olarak aynı olmakla beraber, Kp90'dan daha iyi tanısal değerlilik göstermektedir [13]. 1998 yılında Li LF. ve ark., 38kDa antijenine karşı oluşan antikorların saptanmasının duyarlılığını %40, özgüllüğünü ise %100 olarak bildirmişlerdir [14].

ELISA yönteminden sonraki yıllarda geliştirilen hızlı immünokromotografik testin sonuçları genel olarak ELISA test sonuçlarıyla uyumluluk göstermektedir. Eriş ve ark., ELISA ve ICT sonuçlarını değerlendirdikleri araştırmada her iki testin birbirine uyumluluğunu %96 olarak bulmuşlardır [15]. 38 kDa'luk antijen kullanılarak yapılan 1996 yılındaki ilk ICT çalışmalarında, duyarlılık ve özgüllük sırasıyla %89 ve %92, %93 ve %92 bulunmuştur [16,17]. Ancak, 1999 yılında Mathur ve ark., ile Struyf ve ark.'nın yaptıkları çalışmalarda duyarlılığın daha düşük olduğu (%20 ve %41.5) belirtilmiştir. Bu çalışmalarda da özgüllük değerleri %89 ve %100 olarak saptanmıştır [18,19]. 2000 yılında yapılan araştırmalarda duyarlılık ve özgüllükler Rosolfo ve ark. tarafından %68, %83, Chang ve ark. tara-

fından %73, %88, Pottumanthy ve ark. tarafından %41, %96 olarak bildirilmiştir [20-22]. Görüldüğü gibi, ICT ile yapılan çalışmalarda aktif akciğer tüberkülozlu olgularda testin duyarlılığı %20 ile %92 arasında, özgüllüğü ise %80 ile %100 arasında değişmektedir. Genel olarak özgüllüğün yüksek olduğu tüm çalışmalarda belirtilmektedir. Ancak, çalışmalarda testin duyarlılığının çok farklı olmasının en önemli nedeni aktif akciğer tüberkülozlu olguların tanı kriterlerinin ve hastalık derecelerinin birbirinden çok farklı olmasıdır. Ayrıca, kontrol grubu olarak seçilen olgular çalışmalar arasında çok farklı özellikler göstermektedir. Çalışmamızda aktif akciğer tüberkülozlu olgu seçim kriterleri tamamen altın standart olarak kabul edilen bakteriyolojik tanılamaya bağlıdır. Kontrol grubu olguları ise aktif akciğer tüberkülozunun dışlandığı ve daha önce aktif akciğer tüberkülozlu basili ile karşılaşmış (PPD pozitif) hastalardan oluşmuştur. Çalışmamızda ICT duyarlılığı %46.5, özgüllüğü %100 olarak bulunmuştur. Bu değerler literatürde bildirilen minimum ve maksimum değerler arasında yer almaktadır.

Hastalık süresi ile tespit edilen antikor düzeyi arasındaki ilişkiyi gösteren çalışmalarda, özellikle ilk ay içerisinde antikor düzeyinin düşük olduğu ve yaklaşık olarak 3. aydan itibaren antikor düzeyinin daha belirgin olarak arttığı belirtilmektedir [16-18,23,24]. Çalışmamızda da, hastalık süresi kısa olarak kabul edilen grupta test pozitifliğinin hastalık süresi uzun olan gruba göre daha az olduğu saptanmıştır.

Radyolojik yaygınlığın, antikor titresiyile olan korelasyonunun değerlendirildiği çok az sayıda çalışma bulunmaktadır [12,17]. Bu çalışmalarda da radyolojik yaygınlığın artması ile antikor düzeyinin arttığı gösterilmiştir. Bizim de, radyolojik olarak yaygın kabul edilen grupta test pozitifliğini yüksek olarak saptamamız bu görüşü desteklemektedir.

Son zamanlarda yayınlanan tüberküloz serolojik tanısına ilişkin derlemelerde genel olarak, serolojik testlerin duyarlılıklarının düşük, fakat özgüllüklerinin yüksek olması nedeniyle tanıya yardımcı olarak kullanılabileceği görüşü ağırlık kazanmaktadır [1,25-27]. ICT, tek başına yeterli tanısal değeri olmamasına rağmen, altın standart olarak kabul edilen bakteriyolojik testlerin yanında ucuz ve kolay uygulanabilirliği nedeniyle tanıya yardımcı olarak kullanılabilir. Ancak, bu testin pratik kullanıma girebilmesi için direkt mikroskopisi negatif olguların, ekstra-pulmoner tüberküloz olgularının ve çocuk tüberkülozlu olguların da içinde olduğu geniş kapsamlı araştırmalar gerektiğini düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

1. Foulds J, O'Brien R. New tools for the diagnosis of tuberculosis: the

- perspective of developing countries. *Int J Tuberc Lung Dis* 1998;10:778-83.
2. Chan ED, Heifets L, Iseman MD. Immunologic diagnosis of tuberculosis: a review. *Tuber Lung Dis* 2000;80:131-40
 3. Al Zahrani K, Jahdali H, Poirier P, et al. Accuracy and utility of commercially available amplification and serologic tests for the diagnosis of minimal pulmonary tuberculosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;162:1323-9.
 4. Khomenko A, Bayensky A, Chernousova L, et al. Serodiagnosis of tuberculosis: detection of mycobacterial antibodies and antigens. *Tuber Lung Dis* 1996;77:510-5.
 5. Kocabaş A. Günümüzde ve gelecekte tüberküloz tanısı. In: Kocabaş A (ed). *Tüberküloz kliniği ve kontrolü*. Adana 1991: 243-62.
 6. Akkaynak S. Akciğer tüberkülozu radyolojisi. In: Akkaynak S. *Tüberküloz*; 1986:96-104.
 7. Kocagöz T. Yeni laboratuvar yöntemleriyle tüberküloz tanısı. In: TC Sağlık Bakanlığı Verem Savaş Daire Başkanlığı. *Bölge tüberküloz laboratuvarları teknisyenleri eğitim kitabı*. Ankara 1997:1-6.
 8. Saçılık S. Tüberkülozun serolojik tanısında son gelişmeler. *Mikrobiyol Bült* 1993;27:85-8.
 9. Anderson A, Hansen B. Structure and mapping of antigenic domains of protein antigen 38000 molecular weight protein of *M. tuberculosis*. *Infect Immun* 1989;57:2481-8.
 10. Chang Z, Choudhary A, Lathigra R, et al. The immunodominant 38 kDa lipoprotein antigen of *M. tuberculosis* is a phosphate binding protein. *J Biol Chem* 1994;269:21269.
 11. Jactett P, Bothamley G, Batra H, et al. Specificity of antibodies to immunodominant mycobacterial antigen in pulmonary tuberculosis. *J Clin Microbiol* 1988;26:2313-8
 12. Bothamley G, Rudd R, Festenstein F, et al. Clinical value of the measurement of *M. tuberculosis* specific antibody in pulmonary tuberculosis. *Thorax* 1992;47:270-5.
 13. Chaing H, Suo J, Bai J, et al. Serodiagnosis of tuberculosis. *Am J Respir Care Med* 1997; 156: 906-11.
 14. Li LF, Lin Mc, Chen NH, et al. Serodiagnosis of tuberculosis by ELISA for anti A60 and anti A38. (Abstract). *Chang Keng I Hsuesh Tsa* 1998;21:58-64.
 15. Eriş N, Yuluğ N. Tüberküloz immunokromotografik testin ELİSA- İgG düzeyleriyle karşılaştırılması. *İnfeksiyon Dergisi* 2000 (baskıda).
 16. Cole R, Lu H, Shi Y, et al. Clinical evaluation of a rapid immunochromatographic assay based on the 38 kDa antigen of *M. tuberculosis* on patients with pulmonary tuberculosis. *Tuber Lung Dis* 1996;77:363-8.
 17. Zhou A, Ma W, Zhang P, et al. Detection of pulmonary and extrapulmonary tuberculosis patients with the 38 kDa antigen from *M. tuberculosis* in a rapid membrane based assay. *Clin Diag Lab Immunol* 1996;3:337-41.
 18. Mathur ML, LoBue P, Catanzaro A. Evaluation of a serologic test for the diagnosis of tuberculosis. *Int J Tuberc Lung Dis* 1999;3:732-5.
 19. Struyf F, Lemmens A, Valadas E et al. Usefulness of immunochromatographic detection of antibodies to *M. tuberculosis* as an adjunct to auramine staining for rapid diagnosis of tuberculosis in a low prevalence setting. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1999;18:740-2.
 20. Rosolfo V, Rasalonalona T, Ramarokoto H, et al. Predictive value of the ICT tuberculosis test for the routine diagnosis of tuberculosis in Madagascar. *Tuber Lung Dis* 2000;4:184-5.
 21. Chang I, Lee E, Son H et al. Evaluating the usefulness of the ICT test kit for the diagnosis of tuberculosis. *J Clin Pathol* 2000;53:715-7.
 22. Pottumarty S, Wells V, Morris A. A comparison of seven tests for serological diagnosis of tuberculosis. *J Clin Microbiol* 2000;38:2227-31.
 23. Ivanly J, Kromboitis H, Batra A et al. Evaluation of monoclonal antibody based serological test for tuberculosis. (Abstract). *Clin Exp Immunol* 1983;54:337-45.
 24. Verbon A, Weverling S, Kuilper P et al. Evaluation of different tests for the serodiagnosis of tuberculosis and use of likelihood ratios of serology. *Am Rev Respir Dis*. 1993;148:378-84.
 25. Zahrani A, Jahdali H, Poirier L, et al. Accuracy and utility of commercially available amplification and serologic tests for the diagnosis of minimal pulmonary tuberculosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;162:1323-9.
 26. Swaminathan S, Umadevi P, Shantha S et al. Serodiagnosis of tuberculosis. (Abstract). *Indian J Pediatr* 1999;66:837-42.
 27. Harrington J, Ho J, Silva J, et al. *M. tuberculosis* lipid antigens: use of multi -antigens based enzyme immunoassay for free and complex dissociated antibodies. *Int J Tuberc Lung Dis* 2000;4:161-7.