

Ocena poziomu przeciwciał przeciwprątkowych w płynie opłucnowym, osierdziowym i mózgowo-rdzeniowym u chorych na gruźlicę.

Antimycobacterial antibody level in pleural, pericardial and cerebrospinal fluid of patients with tuberculosis.

Urszula Demkow, Małgorzata Filewska, Beata Białas, Monika Szturmowicz, Tadeusz Zielonka, Stefan Wesołowski, Jan Kuś, Jerzy Ziołkowski, Ewa Augustynowicz-Kopec, Zofia Zwolska, Ewa Skopińska-Różewska, Ewa Rowińska-Zakrzewska

Instytut Gruźlicy i Chorób Płuc w Warszawie

Summary: The goal of the study was to evaluate IgG, IgA and IgM mediated humoral immune response against 38kDa and 16 kDa or 38kDa and LAM mycobacterial antigens in pleural, pericardial or cerebrospinal fluid from patients with tuberculosis (TB) and to compare to non-tuberculous controls (NTB).

30 cerebrospinal fluids (CSF) (16 TB pts and 14 NTB pts), 17 pericardial fluids (6 TB and 11 NTB) and 20 pleural fluids (7 TB and 13 NTB) were examined. Commercially available ELISA – based assays (Pathozyme Tb complex plus, Myco G, A and M – Omega Diagnostic) were used. Tests were performed and cut off established according to manufacturer instruction. Mean IgG level against 38 + 16kDa was significantly higher in neurotuberculosis group compared to control ($p < 0,05$). Sensitivity of the test in detecting neurotuberculosis was of 42% and specificity of 96%. Mean IgG, IgA and IgM against 38kDa + LAM level was higher in TB group compared to NTB in CSF. No difference was observed between TB and NTB group in pleural effusion. Antimycobacterial antibody levels were non-significantly increased in pericardial fluid in TB. The findings of the study indicate that TB is associated with the presence of detectable levels of antibodies in the CSF and pericardial effusion. Anti 38kDa + 16kDa IgG test can be used in combination with other diagnostic methods to increase diagnostic accuracy of neurotuberculosis.

Pneumonol. Alergol. Pol. 2004, 72, 105-109

Key words: Pleural tuberculosis, pericardial tuberculosis, neurotuberculosis, humoral immune response

Wprowadzenie

Zmiany chorobowe w przebiegu gruźlicy mają najczęściej charakter ograniczonego zapalenia zlokalizowanego w jednym bądź w nielicznych narządach. Postacie rozsiane stanowią znikomy odsetek wszystkich przypadków choroby. Ze względu na ograniczony charakter reakcji zapalnej, procesy immunologiczne zachodzące miejscowo mogą nie odzwierciedlać się systemowo.

Powszechnie znanym zjawiskiem w przebiegu reakcji ziarniniakowej jest również kompartmentalizacja odpowiedzi immunologicznej z przesunięciem i aktywacją komórek układu odpornościowego (głównie limfocytów T) do miejsca zapalenia (1). Zjawisko to jest najsilniej wyrażone w przypadku sarkoidozy, ale dotyczy również wielu innych chorób ziarniniakowych, w tym gruźlicy (1). Przesunięciem aktywowanych komórek immunokompetentnych z krwi obwodowej do miejsca przebiegu reakcji zapalnej można tłumaczyć między innymi brak skórnej reakcji na tuberkulinę u niektórych chorych. Istnienie odrębnych przedziałów odpowiedzi immunologicznej potwierdzili Dhand

i wsp., którzy obserwowali spadek liczby limfocytów, głównie limfocytów T we krwi obwodowej u chorych na gruźlicę (1). Spadek ten korelował z rozległością procesu chorobowego i był największy w zaawansowanych postaciach gruźlicy. Przeciwnie do zaburzeń we krwi obwodowej, zmiany komórkowe w BALF (wzrost liczby komórek, głównie limfocytów B i T) były tym bardziej nasilone im proces chorobowy bardziej zaawansowany (1).

Cechy swoistego pobudzenia układu odpornościowego, zarówno komórkowego jak i humoralnego, są wykorzystywane do rozpoznawania szeregu chorób zakaźnych (2). Od kilkadziesiąt lat próbuje się wykorzystać ocenę poziomu przeciwciał przeciwprątkowych do celów diagnostycznych. Obecność przeciwciał przeciwprątkowych wykrywa się testami serologicznymi, wśród których najpowszechniejsze są metody immunoenzymatyczne (ELISA) (2, 3, 4, 5). Testy serologiczne mają dużą potencjalną wartość w diagnostyce gruźlicy ze względu na krótki czas, prostotę wykonania i niskie koszty (2). Jednak pomimo przeprowadzenia wielu badań, z zastosowaniem pojedynczych antygenów i zestawów antygenowych prątka, nadal brak jest jedno-

znacznego określenia miejsca i przydatności metod serologicznych w diagnostyce gruźlicy. Serodiagnostyka może potencjalnie okazać się bardzo pomocna w wykrywaniu tych postaci choroby, w których trudno uzyskać materiał do badań mikrobiologicznych lub ich czułość jest niska (w tym gruźlica ośrodkowego układu nerwowego, opłucnej, osierdzia) (6). W wielu badaniach wykazano, że u części chorych na gruźlicę, poziom przeciwciał przeciwko antygenom prątka w surowicy jest bardzo niski. Możliwość serologicznego potwierdzenia gruźlicy w tych przypadkach badaniem poziomu przeciwciał w płynach ustrojowych pochodzących z zajętego przez proces gruźliczy narządu miałyby również istotne znaczenie praktyczne (7, 8, 9, 10, 11).

Celem niniejszej pracy była ocena poziomu przeciwciał przeciwko antygenom *M. tuberculosis* w płynach ustrojowych pochodzących z narządów objętych procesem gruźliczym (opłucna, osierdzie, płyn mózgowo-rdzeniowy).

Material

Badanymi materiałami były: płyn mózgowo-rdzeniowy (PMR), płyn opłucnowy (P OP) i płyn osierdziowy (P OS).

PMR pochodził od 30 chorych. W tym 16 chorych na gruźlicę ośrodkowego układu nerwowego (OUN) i 14 chorych na niegruźlicze zakażenia OUN. We wszystkich przypadkach gruźlica OUN została potwierdzona za pomocą hodowli oraz metodą PCR. Niegruźlicze zakażenia OUN rozpoznano na podstawie badania ogólnego i badania bakteriologicznego płynu mózgowo-rdzeniowego.

P OS pochodził od 17 chorych. W tym 6 chorych na gruźlicę osierdzia, 5 chorych na wirusowe zapalenie osierdzia, 6 chorych na raka płuca z naciekaniami osierdzia. Raka płuca we wszystkich przypadkach rozpoznano na podstawie badania histologicznego. Wirusowe zapalenie osierdzia potwierdzono serologicznie. Gruźlicę osierdzia potwierdzono bakteriologicznie u 2 chorych. W pozostałych przypadkach gruźlicę rozpoznano na podstawie obrazu kliniczno-radiologicznego i echokardiograficznego, ogólnego badania płynu osierdziowego, wyniku odczynu tuberkulinowego i po wykluczeniu innych przyczyn zapalenia osierdzia. Rozpoznanie zweryfikowano po leczeniu przeciwprątkowym.

P OP pochodził od 20 chorych. W tym 7 chorych na gruźlicę opłucnej, 10 chorych na niegruźlicze zakażenia układu oddechowego i 3 chorych na raka płuca. Gruźlica opłucnej była potwierdzona bakteriologicznie metodą posiewu u 2 chorych. W pozostałych przypadkach gruźlicę opłucnej rozpoznano

na podstawie kryteriów kliniczno-radiologicznych oraz zweryfikowano po zakończeniu leczenia. Gruźlica płuc współistniała z gruźlicą opłucnej w 4 przypadkach. Raka płuca we wszystkich przypadkach rozpoznano na podstawie badania histopatologicznego. Zakażenia niegruźlicze rozpoznano na podstawie badania kliniczno-radiologicznego, badań mikrobiologicznych oraz odpowiedzi na antybiotykoterapię.

Metody

Badany materiał wirowano 2000 obr/min przez 15 minut. Nadsącz porcjowano i zamrażano w temperaturze -40°C . Do oznaczeń metodą ELISA używano nadsącz świeżo rozmrożonych. Do wykonania oznaczeń zastosowano 4 testy oparte na metodzie immunoenzymatycznej firmy Omega Diagnostic Scotland.

Testy immunoenzymatyczne wykrywały następujące przeciwciała:

- IgG anty 38kDa + 16 kDa (Pathozyme tb complex plus),
- IgG anty 38kDa + LAM (Mycog),
- IgA anty 38kDa + LAM (MycogA),
- IgM anty 38kDa + LAM (MycogM).

Antygeny prątka: 38kDa i 16kDa oraz 38kDa i LAM, były opłaszczane na 96-dółkowej mikroplycie, na którą nanoszono badane nadsącze. Obecne w badanym materiale swoiste przeciwciała wiązały się z antygenem, a następnie dodawano przeciwciała mostowe anty-IgG (IgA lub IgM) znakowane enzymatycznie i substrat, który uruchamiał reakcję barwną. Natężenie tej reakcji było mierzone przy użyciu czytnika spektrofotometrycznego ELX 800 firmy Biotec. W zależności od rodzaju testu wynik prezentowano jako indeks gęstości optycznej (półilościowo) lub w jednostkach (ilościowo). Test MycoM pozwalał jedynie na ocenę półilościową. Każdy wynik porównywano do wyniku gęstości optycznej próbki kontrolnej. Otrzymany w ten sposób indeks gęstości optycznej porównano do wyników różnych oznaczeń. Pozostałe testy były testami ilościowymi. Na podstawie gęstości optycznych próbek standardowych wyznaczano krzywą standardową i na jej podstawie obliczano miano przeciwciał w próbce. Wszystkie oznaczenia wykonano zgodnie z zaleceniami producentów testów. Poziom odcięcia pomierzony wynikami uznanymi za dodatnie a ujemnymi dla danej populacji wyznaczano na podstawie krzywej ROC.

Ocena statystyczna

Miana przeciwciał były porównane za pomocą testu U Manna-Whitneya. Znamienność statystyczna została uznana na poziomie istotności $p < 0,05$. Przy braku normalności rozkładu wyników testów w obliczeniach stosowano transformację logarytmiczną. Obliczenia przeprowadzono przy użyciu pakietu statystycznego S-PLUS 2000 (12). Czułość i swoistość były liczone standardowymi metodami (13). Poziom odcięcia był wyznaczony na podstawie krzywej ROC (receiver operating characteristic). Krzywa ROC opisuje prawdopodobieństwo prawidłowych i nieprawidłowych wyników dla różnych poziomów odcięcia (14). Aby wykreślić krzywą ROC frakcja wyników prawdziwie dodatnich (czułość) i fałszywie dodatnich (1 minus swoistość) były obliczone dla różnych poziomów odcięcia i naniesione na wykres. Pole pod krzywą ROC jest miarą dokładności testu. Punkt, który obejmuje największe pole wykresu jest uważany za najwłaściwszy poziom odcięcia (14).

Wyniki

Płyn mózgowo-rdzeniowy

Średni poziom przeciwciał IgG anty 38 + 16-kDa u chorych na gruźlicę wynosił 150 ± 47 U/ml ($n=13$) i był znamienne wyższy niż w grupie kontrolnej 38 ± 12 U/ml ($n=9$) ($p < 0,05$). Poziom IgG anty 38-

kDa + LAM w grupie gruźlicy: 256 ± 65 U/ml ($n=9$), w grupie kontrolnej: $73,5 \pm 16$ U/ml ($n=7$); IgA anty 38-kDa + LAM: gruźlica: $599,7 \pm 231$ U/ml ($n=14$), kontrola: 1925 ± 851 U/ml ($n=8$), dla klasy IgM anty 38-kDa + LAM gruźlica: $0,914 \pm 0,3$ ($n=9$) kontrola: $0,22 \pm 0,1$ U/ml ($n=5$). W przypadku wszystkich badanych przeciwciał anty 38-kDa+LAM obserwowane różnice pomiędzy grupą gruźlicy a grupą kontrolną były nieistotne (rycina 1).

Płyn osierdziowy

W płynie osierdziowym średnie poziomy przeciwciał przeciwpłatkowych były następujące: IgG anty 38 + 16kDa w grupie gruźlicy: 424 ± 114 U/ml ($n=6$), kontrola: 41 ± 106 U/ml ($n=11$), IgG anty 38-kDa + LAM gruźlica: $574,8 \pm 112$ U/ml ($n=6$), kontrola: $185,5 \pm 66,5$ U/ml ($n=9$), IgA anty 38-kDa + LAM gruźlica: $684,7 \pm 312$ U/ml ($n=6$), kontrola: 582 ± 167 U/ml ($n=11$), IgM anty 38-kDa + LAM gruźlica: $0,95 \pm 0,4$ ($n=6$), kontrola: $0,69 \pm 0,16$ ($n=9$). Nie wykazano różnic statystycznych pomiędzy badanymi grupami (rycina 1).

Płyn opłucnowy

Średni poziom IgG anty 38 + 16kDa w grupie gruźlicy wynosił: 336 ± 279 U/ml ($n=5$), w grupie kontrolnej: 313 ± 78 U/ml ($n=8$), IgG anty 38-kDa + LAM gruźlica: $660,6 \pm 793$ U/ml ($n=4$), kontrola: 793 ± 144 U/ml ($n=7$), IgA anty 38-kDa + LAM – gruźlica: $980,5 \pm 417$ U/ml ($n=6$), kontrola: 1770 ± 774 U/ml ($n=13$) oraz IgM anty 38-kDa + LAM – gruźlica: $1,44 \pm 0,8$ ($n=4$) kontrola: $1,7 \pm 0,43$ ($n=6$). Obserwowane różnice pomiędzy badanymi grupami były nieistotne statystycznie (rycina 1). Czulość testu IgG anty 38 + 16kDa dla wykrywania gruźlicy opon mózgowo-rdzeniowych wynosiła 42% przy swoistości 96%.

Omówienie wyników

Odpowiedź immunologiczna jest najważniejszym czynnikiem determinującym przebieg zakażenia prątkiem gruźlicy (15, 16, 17). Jest ona uwarunkowana szeregiem czynników zarówno wrodzonych (podłoże genetyczne) jak i nabytych (środowisko i warunki życiowe, stan odżywienia, choroby współistniejące i ich leczenie, wiek, szczepienia ochronne) (16, 18, 19). Powszechnie przyjmuje się, że odporność na zachorowanie wiąże się z odpowiedzią typu komórkowego, natomiast ciężkie rozsiane postaci choroby korelują z odpowiedzią typu humoralnego (7, 17, 19, 21, 22).

W niniejszej pracy oceniono lokalną odpowiedź humoralną przeciwko antygenom prątka powiązaną

z układem błon surowiczych u chorych na gruźlicę. Oceniając średni poziom przeciwciał przeciwpłatkowych w płynie opłucnowym nie stwierdzono istotnych różnic pomiędzy grupą chorych na gruźlicę a grupą kontrolną w przypadku żadnej z badanych klas przeciwciał. W przypadku płynu osierdziowego u chorych na gruźlicę obserwowano wyższe poziomy wszystkich badanych przeciwciał w porównaniu do grupy kontrolnej, jednak w żadnym przypadku uzyskane różnice nie były istotne statystycznie. Znamienne różnice uzyskano jedynie dla przeciwciał klasy IgG w przypadku gruźlicy opon mózgowo-rdzeniowych. Otrzymane wyniki należy jednak traktować jako pilotowe, szczególnie w przypadku gruźlicy opłucnej i osierdzia, gdyż badane grupy były nieliczne. Być może brak znamienności statystycznej można również tłumaczyć dużym rozrzutem wyników jednostkowych zarówno w grupie chorych na gruźlicę jak i w grupie kontrolnej. W wielu próbkach pochodzących od chorych z grupy kontrolnej także obserwowano wysokie wartości gęstości optycznej. Związane to było najprawdopodobniej z obecnością silnej interferencji tła spowodowanej reakcją antygen-przeciwciała o niespecyficznym charakterze przy dużym zagęszczeniu próbki (wysokie stężenie białka).

Słabo nasiloną odpowiedź humoralną u chorych na gruźlicę opłucnej może również wynikać z dominacji odpowiedzi typu komórkowego w tych przypadkach (23). Często izolowana gruźlica opłucnej to łagodnie przebiegająca postać choroby, ulegająca samowyleczeniu. Być może skłonność do samoistnej rezolucji można tłumaczyć przewagą mechanizmów komórkowych (odpowiedź typu Th1) na odpowiedź humoralną (Th2). Dominację odpowiedzi typu Th1 potwierdzają wysokie poziomy interferonu gamma bardzo często stwierdzane w płynie opłucnowym u chorych z wysiękiem o etiologii gruźliczej (23).

Podobnie jak w przypadku surowic, także i w przypadku badanych płynów przeciwciała klasy IgG przeciwko antygenom rekombinowanym najlepiej dyskryminują grupę chorych na gruźlicę i grupę kontrolną (10, 11, 24, 25). Ze względu na stosunkowo nieliczną grupę kontrolną nie można z dużą dokładnością wyznaczyć poziomu odcięcia pomiędzy grupą chorych i grupą kontrolną. Dlatego nie jest możliwe ściśle określenie swoistości i czulości badanych testów (za wyjątkiem przeciwciał IgG anty 38 + 16 kDa w gruźlicy ośrodkowego układu nerwowego). Jednakże bardzo wysokie wartości u pojedynczych chorych na gruźlicę wskazują, że w niektórych przypadkach testy oparte na antygenach IgG mogą mieć wartość diagnostyczną.

W dostępnym piśmiennictwie znaleziono niewiele prac oceniających lokalną odpowiedź humoralną u chorych na gruźlicę obejmującą błony surowicze. Chierakul i wsp. porównali przydatność testu immunochromatograficznego opartego na antygenie 38-kDa w rozpoznawaniu gruźlicy opłucnej. Test wykonano zarówno w surowicy jak i w płynie opłucnowym. Poziomy przeciwciał w surowicy korelowały z lokalną odpowiedzią humoralną u większości chorych, jednak w kilku przypadkach poziom przeciwciał był podwyższony w płynie opłucnowym, natomiast niski w surowicy. Autorzy sugerują, że przynajmniej w części przypadków lokalna synteza przeciwciał i ich sekrecja do płynu opłucnowego może mieć miejsce (26). Levy i wsp. porównali poziomy przeciwciał w surowicy i w płynie opłucnowym. Autorzy ci wykazali, że po przeliczeniu na poziom białka, miano IgG przeciwko mieszaninie antygenów prątka koreluje z ich poziomem w surowicy. Uzyskane wyniki sugerują raczej bierne przechodzenie IgG z surowicy do płynu opłucnowego a nie miejscową produkcję (27).

Watt i wsp. ocenili poziom przeciwciał przeciwprątkowych w płynie mózgowo-rdzeniowym w populacji egipskiej (28). Obecność przeciwciał wykryto u 52% chorych na gruźlicę przy swoistości 96% (28). Malati i wsp. w populacji indyjskiej wykazali wyższy średni poziom przeciwciał IgG anty A60 w płynie mózgowo-rdzeniowym u chorych na gruźlicę w porównaniu do grupy chorych na niegruźlicze zakażenia (29). Oceniając przydatność badanego testu do rozpoznawania gruźlicy wyliczono dodatnią wartość predykcijną na poziomie 83% przy niskiej swoistości (63%) oraz ujemnej wartości predykcyjnej wynoszącej 25%. Badany test był zatem mało przydatny do rozpoznawania gruźlicy. (29). Bothamley i wsp. badali potencjał serologiczny antygeny 19-kDa w płynie mózgowo-rdzeniowym w populacji europejskiej i indyjskiej. Autorzy ci wykazali, że oceniany test różnicuje grupę chorych od zdrowych w populacji europejskiej natomiast nie różnicuje w populacji indyjskiej (30).

Gruźlica osierdzia jest bardzo trudna do rozpoznania. Jest to postać choroby zagrażająca życiu, a jej następstwem może być ciężkie późne powikłanie pod postacią zaciskającego zapalenia osierdzia (31). Diagnoza opiera się na posiewie płynu osierdziowego, biopsji osierdzia, oraz rozpoznaniu

współistniejącej gruźlicy innych narządów. Choroba jest bardzo rzadka a grupy opisane w piśmiennictwie bardzo nieliczne. Trautner i wsp. poddała analizie 10 przypadków gruźlicy osierdzia. Z tej grupy u 6 chorych wyhodowano prątki, jednak u 5 z nich dodatni wynik hodowli otrzymany był dopiero po zakończeniu hospitalizacji (31).

Rozpoznanie gruźliczego zapalenia opon jest trudne niezależnie od stosowanych metod diagnostycznych. Czułość metod bakteriologicznych w przypadku posiewu płynu mózgowo-rdzeniowego jest bardzo niska (32, 33). Trudności diagnostyczne może również sprawiać izolowana gruźlica opłucnej, gdyż odsetek bakteriologicznych potwierdzeń tej postaci choroby jest znacznie niższy niż w przypadku gruźlicy płuc. Podniesiony poziom INF γ i IL2 w płynie osierdziowym u chorych na gruźlicę osierdzia w stosunku do nieswoistych zakażeń i do nowotworów wskazuje na istnienie lokalnej odpowiedzi typu Th1 u tych chorych (34). W dostępnym piśmiennictwie nie znaleziono prac oceniających odpowiedź humoralną na antygeny prątka w płynie osierdziowym.

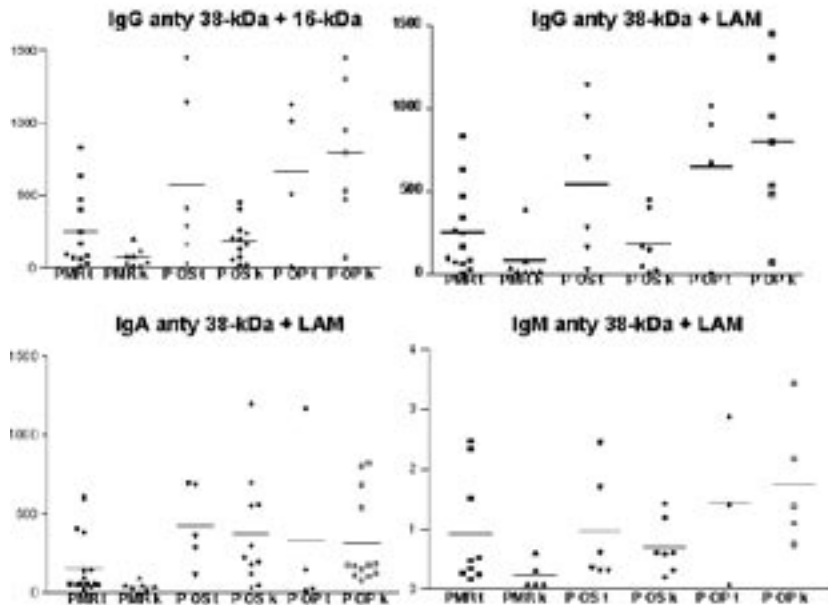
Wnioski

Poziomy przeciwciał przeciwprątkowych w płynie mózgowo-rdzeniowym i płynie osierdziowym są podwyższone odpowiednio u chorych na gruźlicę ośrodkowego układu nerwowego i osierdzia.

Test wykrywający przeciwciała anty 38-kDa + 16-kDa prezentuje wysoką swoistość i akceptowalną czułość i może być, w powiązaniu niektórymi innymi metodami diagnostycznymi stosowany w rozpoznawaniu gruźlicy ośrodkowego układu nerwowego.

Trudności w ocenie odpowiedzi humoralnej w płynie opłucnowym mogą wynikać z obecności białka w wysokim stężeniu i możliwości przebiegu niespecyficznych reakcji antygen przeciwciała. Możliwe jest również istnienie przewagi mechanizmów odpowiedzi immunologicznej komórkowej nad odpowiedzią humoralną w gruźlicy opłucnej.

Uzyskane wyniki należy traktować jako pilotowe. Dokładna ocena odpowiedzi humoralnej w układzie błon surowiczych wymaga dalszych badań z udziałem liczniejszej grupy chorych oraz grupy kontrolnej.



ycina 1. Poziomy przeciwciał w płynie opłucnowym, mózgowo-rdzeniowym i osierdziowym. (PMR – płyn mózgowo-rdzeniowy, P OS – płyn osierdziowy, P OP – płyn opłucnowy, t – gruźlica, k- kontrola)

Piśmiennictwo

- Dhand R., De A., Ganguly N.K. i wsp.: Factors influencing the cellular response in bronchoalveolar lavage and peripheral blood of patients with pulmonary tuberculosis. *Tubercle* 1988; 69: 161-173
- Grange J.M.: Diagnostic tests for tuberculosis and their evaluation. *Sem. Respir. Infect.* 1994; 9: 71-77
- Bassey E.O. i wsp.: Candidate antigens for improved serodiagnosis of tuberculosis. *Tubercle*, 1996; 77:136-145
- Wilkins E.G., Ivanyi J.: Potential value of serology for diagnosis of extrapulmonary tuberculosis. *Lancet* 1990; 336: 641-44
- Julian E., Matas L., Hernandez A., Alcaide J., Luquin M.: Evaluation of a new serodiagnostic tuberculosis test based on immunoglobulin A detection against Kp-90 antigen. *Int. J. Tubercle Lung Dis.* 2000; 4: 1082-1085
- Ceglecka-Tomaszewska K., Ziolkowski J.: Gruźlica u dzieci – 12 letnie obserwacje. *Klinika* 1993; 2, 26-27
- Ferreira P., Soares R., Arala-Chaves M.: Susceptibility to infection with *Mycobacterium avium* is paradoxically correlated with increased synthesis of specific anti-bacterial antibodies. *International Immunol.* 1991; 3: 445-452
- Sada E., Aguilar D., Torres M. i wsp.: Detection of lipoarabinomannan as a diagnostic test for tuberculosis. *J. Clin. Microbiol.* 1992; 30, 2415-18
- Smith M.H., Weistein A.J.: Genitourinary tuberculosis, red. Schlossberg D.: *Tuberculosis*. Springer Verlag, NY 1994; 155-65
- Demkow U., Zielonka T.M., Filewska M., i wsp.: IgG mediated immune response against mycobacterial antigen 38-kDa and 16-kDa in extrapulmonary tuberculosis. *Allergy. Clin. Immun.* 2000; suppl.2: 209
- Demkow U., Zielonka T. M., Michałowska-Mitczuk D. i wsp.: Przydatność oznaczania w surowicy przeciwciał IgG przeciwko antygenowi A60 w diagnostyce gruźlicy płuc. *Pol. Arch. Med. Wewn.* 1999; 51: 99-105
- S-PLUS 2000 User's Guide, Data Analysis Products Division, MathSoft, Seattle, WA, Seattle, 1999
- Bronner W.S., Newman T.B., Cummings S.R.: Designing a new study: III. Diagnostic tests. w Hulley S.B., Cummings S.R. *Designing clinical research*. Baltimore, Williams and Wilkins 1988; 89-92
- Altman D.G., Bland J.M.: Statistics notes: Diagnostic tests 3: receiver operating characteristic plots. *Br. Med. J.* 1994; 309:188-189
- Tan J.S., Canaday D.H., Boom H. i wsp.: Human alveolar T lymphocyte responses to *Mycobacterium tuberculosis* antigens. *J. Immunol.* 1997; 159: 290-97
- Ellner J.J.: Review: the immune response in human tuberculosis – implications for tuberculosis control. *J. Infect. Dis* 1997; 176, 1351-1359
- Copper A., Flynn J.L.: The protective immune response to *Mycobacterium tuberculosis*. *Curr. Opin. Immunol.* 1995; 7: 512-16
- Brett S.J., Ivanyi J.: Genetic influences on the immune repertoire following tuberculous infection in mice. *Immunology* 1990; 71: 113-119
- Brett S. J., Ivanyi J.: Genetic influences on the immune repertoire following tuberculous infection in mice. *Immunology* 1990; 71: 113-119
- Rook G.A.W., Seah G., Ustianowski A.: *M. tuberculosis*: immunology and vaccination. *Eur. Respir. J.* 2001; 17, 537-557
- Hernandez-Pando R., Orozco H., Sampieri A. i wsp.: Correlation between the kinetics of Th1/Th2 cells and pathology in a murine model of experimental pulmonary tuberculosis. *Immunology* 1996; 89: 26-33
- Glatman-Freedman A., Casadevall A.: Serum therapy for tuberculosis revisited: reappraisal of the role of antibody-mediated immunity against *Mycobacterium tuberculosis*. *Clin. Microbiol. Rev.* 1998; 11: 514-532
- Villena V., Lopez-Encuentra A., Pozo F. i wsp.: Interferon gamma levels in pleural fluid for the diagnosis of tuberculosis. *Am. J. Med.* 2003; 115(5), 365-370

24. Demkow U., Zielonka T.M., Filewska M. i wsp.: Przydatność oznaczania przeciwciał przeciwprątkowych 38 kDa metodą immunochromatograficzną w rozpoznawaniu gruźlicy. *Pneum. Alergol. Pol.* 2000; 68, 355-362
25. Demkow U., Zielonka T.M., Strzalkowski J. i wsp.: Diagnostic value of IgG serum level against 38-kDa mycobacterial antigen. *Pneumonol. Alergol. Pol.* 1998; 66, 509-516
26. Chierakul N., Damrongchokpipat P., Chaiprasert A. i wsp.: Antibody detection for the diagnosis of tuberculosis pleuritis. *Int. J. Tuberc Lung Dis.* 2001; 5: 968-972
27. Levy H., Wayne L.G., Anderson B. E. i wsp.: Antimycobacterial antibody levels in pleural fluid as reflection of passive diffusion from serum. *Chest* 1990; 97: 1144-1147
28. Watt G., Zaraspe G., Bautista S. i wsp.: Rapid diagnosis of tuberculosis meningitis by using an enzyme-linked immunosorbent assay to detect mycobacterial antigen and antibody in cerebrospinal fluid. *J. Infect. Dis.* 1988; 158: 681-686
29. Malati T., Kumari G., Dinakar I.: Evaluation of A60 antibodies in pulmonary and neurotuberculosis. *Indian J. Clin. Biochem* 1995; 10: 72-76
30. Bothamley G., Batra H., Ramesh V. i wsp.: Serodiagnostic value of the 19 kDa antigen of *M. tuberculosis* in Indian patients. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 1992; 11: 912-915
31. Trautner B. W., Darouiche R. O. Tuberculous pericarditis: optimal diagnosis and management. *Clin Infect Dis.* 2001; 33: 954-961
32. Thwaites G. E., Chau T.T.H., Stępniewska K. i wsp.: Diagnosis of adult tuberculous meningitis by use of clinical and laboratory features. *Lancet* 2002; 360: 1287-1292
33. Patil S.A., Gourie-Devi M., Anand A.R. i wsp.: Significance of mycobacterial immune complex (IgG) in the diagnosis of tuberculosis meningitis. *Tubercle Lung Dis.* 1996; 77, 164-67
34. Burgess L.J., Reuter H., Carstens M.E. i wsp. Cytokine production in patients with tuberculous pericarditis. *Int.J. Tuberc. Lung Dis.* 2002; 6: 439-446

Wpłynęła: 9.04.2004

Adres: Zakład Diagnostyki Laboratoryjnej Instytutu Gruźlicy i Chorób Płuc
ul. Płocka 26, 01-138 Warszawa