

Akciğer ve Akciğer Dışı Tüberkülozda Xpert MTB/RIF Testinin Tanısal Performansının Değerlendirilmesi

Evaluation of Diagnostic Performance of Xpert MTB/RIF Test for Pulmonary and Extrapulmonary Tuberculosis

Aynur Gülcan[®], Ümran Toru Erbay[®], Özlem Genç[®]

Kütahya Sağlık Bilimleri Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kütahya

Öz

Amaç: Tüm dünyada mortal enfeksiyon etkenleri arasında ilk on mikroorganizmadan birisi olan *Mycobacterium tuberculosis*'in hızlı ve doğru tanısı tedaviye kısa sürede başlanması ve yeni enfeksiyonların gelişmesinin önlenmesi için oldukça önemlidir. Çalışmanın amacı, tüberküloz insidansı ülkemiz ortalamasının altında kalan Kütahya'da Xpert MTB/RIF yönteminin çeşitli klinik örneklerdeki tanı performansını değerlendirmektir.

Yöntem: Bu amaçla akciğer ve akciğer dışı tüberküloz ön tanımlı hastalardan alınan işlenmemiş klinik örneklerin Xpert MTB/RIF testi, örnek türüne göre değişmek üzere NALC-NAOH homojenizasyon- dekontaminasyon işlemi sonrası Erlich Ziehl Nelsen boyaması ve Löwenstein-Jensen besiyerine ekimi yapıldı. Kültür ve Xpert MTB/RIF testinin solunum/solunum dışı ve yayma negatif/pozitif örneklerdeki performansı; yayma mikroskopisi ve Xpert MTB/RIF derecelendirimi karşılaştırıldı, yöntemler arası uyum hesaplandı.

Bulgular: Klinik, radyolojik ve mikrobiyolojik değerlendirme sonrası 209 hastanın 26 (%12.4)'sü tüberküloz (%76.9'u erkek, %50'si <45 yaş) kabul edildi. Solunum ve solunum dışı örneklerin kültür ve/veya moleküler yöntem ile pozitiflik yüzdeleri sırasıyla %13.2 ve %12.5 idi. Yayma negatif solunum örneklerinde Xpert MTB/RIF için duyarlılık %84.6, özgüllük %100 iken, solunum dışı örneklerde duyarlılık %60, özgüllük %100, yayma pozitif tüm örneklerde duyarlılık ve özgüllük %100 olarak saptandı. Yayma mikroskopisinin solunum dışı örnekler için en düşük, bronş lavajı için en yüksek duyarlılığa; Xpert MTB/RIF'in solunum örneklerinde kültür ile aynı, solunum dışı örneklerde nispeten daha yüksek duyarlılığa sahip olduğu; ARB ve Xpert MTB/RIF derecelendirimindeki uyumun solunum örneklerinde daha yüksek olduğu saptandı.

Sonuç: Sonuç olarak, Xpert MTB/RIF sisteminin düşük örnek hacmi olan laboratuvarlarda, ekonomik ve fiziki koşul yetersizliğinde konvansiyonel tanı yöntemleri ile birlikte kurulununun oldukça hızlı ve güvenilir sonuç elde etmeye katkısı olacağı düşünüldü.

Anahtar kelimeler: Xpert MTB/RIF, *Mycobacterium tuberculosis*, tanı, performans testleri

ABSTRACT

Objective: Rapid and accurate diagnosis of *Mycobacterium tuberculosis* which is one of the first ten mortal microorganisms all over the world is very important to start treatment rapidly and to prevent new infections. Our aim is to evaluate the diagnostic performance of Xpert MTB/RIF assay for clinical samples in Kütahya where TB incidence remains under mean values for Turkey.

Methods: Clinical samples taken from patients suspected of pulmonary and extrapulmonary tuberculosis were tested with Xpert MTB/RIF assay without any prior processing; and the same samples after NALC-NaOH homogenisation, decontamination or without; depending on the sample type were tested with EZN staining, inoculation on LJ medium. Performances of culture and Xpert MTB/RIF test were determined in respiratory/nonrespiratory and smear negative/positive samples; categories of AFB and Xpert MTB/RIF were compared and agreement between diagnostic methods was calculated.

Results: Out of 209 patients 26 (12.4%) were accepted as tuberculosis (76.9%, male; 50%, <45 years) after clinical, radiological and microbiological evaluation. Positivity of respiratory and nonrespiratory samples with culture and/or molecular method were 13.2% and 12.5%, respectively. In smear negative respiratory samples, sensitivity and specificity of Xpert MTB/RIF were 84.6% and 100%, in nonrespiratory samples 60% and 100%; in all smear positive samples, sensitivity and specificity were 100%. Smear microscopy had lowest sensitivity for nonrespiratory samples and highest sensitivity for bronchial lavage; sensitivity of Xpert MTB/RIF was similar to culture for respiratory samples and was more sensitive for nonrespiratory samples; agreement in categories of AFB/Xpert MTB/RIF was highest in respiratory samples.

Conclusion: In conclusion establishment of Xpert MTB/RIF system together with conventional diagnostic methods will contribute to rapid and reliable results for laboratories with low sample burden in failures of economic and physical conditions.

Keywords: Xpert MTB/RIF, *Mycobacterium tuberculosis*, diagnosis, performance tests

Alındığı tarih:

26.04.2019

Kabul tarihi:

06.08.2019

Yayın tarihi:

31.12.2019

ORCID Kayıtları

A. Gülcan 0000-0003-3134-233X

Ü. T. Erbay 0000-0001-9988-8983

Ö. Genç 0000-0003-3521-5274

✉ draynurgulcan@gmail.com

GİRİŞ

Tüberküloz, kişiden kişiye hava yolu ile bulaşan, maruz kalan kişinin immün duyarlılığı, enfekte kişinin

bulaştırıcılık derecesi, bakteri konsantrasyonunu etkileyen ortam koşulları, maruziyet -yakınlık, sıklık ve süre olarak- durumlarına göre değişen oranlarda bulaş riski bulunan ve klinik şüpheli olgularda hızlı

tanı konulması ve ardından uygun tedavinin hızla başlanması gereken bir hastalıktır⁽¹⁾. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)'nün 2018 Küresel Tüberküloz Raporu'na göre dünya çapında 10 milyon yeni tüberküloz (TB) olgusu vardır ve bunların %58'i erkek, %32'si kadın ve %10'u çocuk, %9'u insan immün yetmezlik virüsü saptanan hastalardır⁽²⁾.

Türkiye'deki TB insidansı 2005 yılından bu yana giderek azalmıştır. 2005 yılında 100.000'de 29.4 olan insidans hızı 2014 yılında 100.000'de 16.9, 2016 yılında 100.000'de 15.3 olarak belirlenmiştir⁽³⁾. Türkiye TB açısından DSÖ Avrupa bölgesinde yer almakta olup, 2016 yılı Avrupa bölgesi tahmini insidansı 100.000'de 32 iken, Türkiye'de bu oran 100.000'de 18 olarak bildirilmiştir. Ek olarak Avrupa bölgesinde TB nedeniyle ölüm oranı aynı yıl için 100.000'de 3.4 iken, ülkemizde 100.000'de 0.62 olarak bildirilmiştir^(3,4).

Toplumda tüberkülozdan korunmada aşının dışında diğer önemli bir yol, enfekte kişilerin zamanında, uygun şekilde tedavi edilmesidir. Bunun için ise hastalığın tanısının olabildiğince kısa süre içerisinde konulması gerekmektedir. Tanıda hızlı yöntemlerden en kolay, hızlı, ucuz ve bulaştırıcılık varlığını öngörmede yararlı yöntem, balgam yaymasının mikroskopik incelenmesidir. Bununla beraber, duyarlılık ve özgüllüğü örneğin türü, örnekteki basil konsantrasyonu, boyama tekniği, mikroskopistin tecrübesi gibi faktörlerden etkilenerek ortalama %22-80 arasında değişmektedir⁽⁵⁾. Ekspektore balgam örneklerinde pozitif prediktif değeri >%90 olarak bildirilse de⁽⁶⁾, yalancı negatiflik durumunda enfekte kişinin bulaştırıcılığı devam edeceğinden performansı daha yüksek, hızlı tanı yöntemlerine gereksinim vardır. Bu kapsamda, hızlı tanımlama ve antibiyotik duyarlılık sonuçları elde etmek üzere farklı ticari sistemler geliştirilmekte ve bunlar ile ilgili çeşitli çalışmalar yapılmaktadır⁽⁷⁾. İmmün süpresyona yol açan durum veya hastalıkların günümüzde giderek artması nedeniyle, her koşulda çalışmaya uygun hızlı tanı ve antibiyotik duyarlılık yöntemlerine ulaşılabilirlik önemini arttıran bir konu hâline gelmiştir.

Ülkemizde TB laboratuvarları -DSÖ'nün yayımladığı standartlara⁽⁸⁾ uygun şekilde- TB şüpheli materyaller ile yapılacak işlemler ve ilişkili risklere göre, düşük riskli laboratuvar biyogüvenlik düzeyi-1 (BGD-1), orta riskli laboratuvar (BGD-2) ve yüksek riskli laboratuvar (BGD-3) olarak sınıflandırılmış ve TB laboratuvarlarının çalışma usul ve esasları ile bu üç düzey için de gerekli laboratuvar teknik alan özellikleri ve ekipmanlar bir mevzuat ve rehber ile belirlenmiştir^(9,10). İlgili mevzuat ve standart gereği mikobakteri tanımlama ve antibiyogram çalışmaları ancak BGD-3 laboratuvarında çalışılabilmektedir. Bilindiği gibi böyle bir laboratuvarın en önemli gereksinimi "negatif basınçlı oda" olup, kurulumu özel koşullar ve yüksek maliyet gerektirmektedir.

Çalışmamızda, bu maliyet ve özel koşulları sağlayamayacak, tüberküloz tanısını ancak biyogüvenlik düzeyi II laboratuvarında, mikroskopi ve katı faz kültür ile koyabilecek olan hastanelerde, Dünya Sağlık Örgütü'nün solunum örnekleri için hızlı moleküler test olarak onayladığı XpertMTB/RIF sistem (Cepheid, Sunnyvale, Kaliforniya, ABD) ile tanı ve rifampisin direnci varlığının araştırılması ve özellikle yayma negatif örneklerde bu testin değerini göstermeyi hedefledik.

GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmamıza Nisan 2014-Nisan 2016 tarihleri arasında farklı polikliniklere başvuran ve hastanemiz çeşitli birimleri yataklı servislerinde yatmakta olan tüberküloz ön tanılı hastalar dâhil edildi. Akciğer veya akciğer dışı tüberküloz şüpheli hastalara ait fiziksel muayene, radyolojik ve mikrobiyolojik veriler ilgili uzmanlar tarafından değerlendirildi. Çalışmada değerlendirilen solunum örnekleri, balgam, bronş lavajı ve trakeal aspirat örneklerinden, solunum dışı örnekler ise steril vücut sıvıları (plevra ve perikard sıvısı, beyin omurilik sıvısı (BOS) ve eklem sıvısı), idrar, lenf nodu aspirat örneği, abse örneklerinden oluşmaktaydı.

Mikobakteri laboratuvarına gönderilen klinik örneklerden önce direkt preparat hazırlandı, daha sonra

steril vücut sıvısı örnekleri haricindeki örneklerden NALC-NaOH homojenizasyon-dekontaminasyon-konsantrasyon (HDC) işlemi sonrası elde edilen teksif materyalinden lam üzerine yayılarak tüm yaymalar Erlich Ziehl Nelsen (EZN) ile boyandı. Bu arada Xpert MTB/RIF sisteminde çalışmak üzere HDC ile işlemlenmiş örnekler "sample reagent" ile 1:2 oranında karıştırıldı ve vortekslenildi. On dk oda ısısında bekletildikten sonra yine vortekslenerek 5 dk. bekletildi ve karışımından 2 ml kartuş içerisine aktarılıp cihazın uygun modülüne yerleştirildi. Steril vücut sıvısı örnekleri ve homojenizasyon-dekontaminasyon işlemi yapılmış diğer tüm örnekler Löwenstein Jensen (LJ) besiyerine ekildi. Örneklerin işlenmesi, direkt ve teksif yaymalarının hazırlanması, EZN boyama, LJ besiyerine ekim, değerlendirme ve raporlandırma sürecinde Ulusal Mikrobiyoloji Standartları (UMS) Ulusal Tüberküloz Tanı Rehberi esas alındı⁽¹⁰⁾. Pozitif yayma ve kültürlerin değerlendirilmesi CDC ve UMS'nin önerdiği aynı skala^(10,11) baz alınarak laboratuvar uzmanları tarafından, Xpert MTB/RIF sistemine yüklenen örneklerin değerlendirilmesi ise 110 dk sonunda floresan sinyallerin sistem tarafından okunması ile otomatik olarak yapıldı.

EZN boyama, moleküler yöntem ve kültür ile test edilen hasta örneklerinde *M. tuberculosis* complex saptandığında ilgili klinisyenler ile görüşülerek klinik tablo, görüntüleme yöntemleri vb. değerlendirilerek hastaların TB tanısı kesinleştirildi.

Hastalardan örnek gönderimi sırasında tüm klinisyenler tarafından hastaya ait demografik bilgiler, klinik bulgular, daha önceki tüberküloz geçirme, tedavi durumu, TB hastası ile temas öyküsü gibi verilerin işlendiği form doldurularak laboratuvara ulaştırılması sağlandı. Son bir ay içerisinde anti-tüberküloz tedavi aldığı belirlenen hastalar çalışma dışı bırakıldı.

Bu çalışmada, kısıtlılığımız tüberküloz kültürü için katı besiyerinin yanında bir sıvı kültür sistemi, Xpert MTB/RIF yanında farklı bir moleküler tanı yöntemi kullanamamış olmamızdır.

Çalışmada elde edilen tüm veriler SPSS (Ver 18.0, ABD) istatistik programına işlendi. Her hastanın aynı örnek türünden yalnızca biri (gönderilen ilk örnek) kayıt altına alındı. Veriler arasındaki istatistiksel ilişkinin saptanmasında Pearson korelasyon analizi, gerektiğinde Fisher Exact testi ve ki-kare testleri kullanıldı. Performans testi analizleri örnek bazında -klinik uyum gözetilerek- yapıldı.

Bu çalışma 2014/230 No.lu Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu onayı ardından yürütmeye başlanmıştır. Ayrıca 15.04.2014 tarih ve 50784200-604.08-43 sayılı karar ile Dumlupınar Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Kurulu'nca onaylanmış ve desteklenmiştir.

BULGULAR

Çalışmaya alınan 209 tüberküloz ön tanılı hastanın 55 (%26.3)'i kadın (ortalama yaş: 54.39±20), 154 (%73.7)'ü erkek (ortalama yaş: 56.74±17.4) idi. Yirmi altı (%12.4) hasta klinik bulgu, görüntüleme yöntemleri ve mikrobiyolojik analiz sonuçları ile birlikte değerlendirilerek kesin TB kabul edildi. Tüberküloz tanısı konulan hastaların 20 (%76.9)'si erkek, 6 (%23.1)'si kadındı. Tüberküloz olan ve olmayan hastaların yaş ortalamaları sırasıyla 48.65±21.54 ve 57.18±17.36 idi (p=0.024). Kadın ve erkek hastalarda TB yüzdeleri arasında anlamlı bir fark saptanmazken, 45 yaşın altındaki hastalarda diğer yaş gruplarına göre TB pozitiflik oranı istatistiksel olarak anlamlı oranda yüksekti (p=0.021). Hastalara ait demografik veriler Tablo 1'de gösterilmiştir.

Tablo 1. Tüberküloz olgularının yaşa ve cinsiyete göre dağılımı.

	TB (-) n (%)	TB (+) n (%)	p değeri
Cinsiyet			
Kadın (N: 55)	49 (89.1)	6 (10.9)	0.689
Erkek (N: 154)	134 (87.0)	20 (13)	
Yaş			
≤44 (N: 57)	44 (77.2)	13 (22.8)	0.021
45-64 (N: 71)	65 (91.5)	6 (8.5)	
>65 (N: 81)	74 (91.4)	7 (8.6)	

Klinik ve radyolojik olarak TB şüphesi yüksek olan 209 hastadan toplam 229 örnek laboratuvara gönderildi. Yirmi hastanın iki farklı örneğinde yayma, kültür ve Xpert MTB/RIF testleri çalışıldı.

Balgam örneklerinin %15.1'inde, bronş lavajı örneklerinin %11.5'inde, steril vücut sıvısı örneklerinin %3.4'ünde *M. tuberculosis* saptandı. Ayrıca altı lenf nodu aspiratından üçünde ve iki abse örneğinden birinde -ki örnek psoas absesi idi- *M. tuberculosis* saptandı. Laboratuvara gönderilen örneklerin 215 (%93,9)'i yayma negatif olup, bunların dokuzu (%4.2) kültür ve Xpert MTB/RIF pozitif, üçü (%1.4) kültür pozitif-Xpert MTB/RIF negatif, dördü (%1.8) kültür negatif- Xpert MTB/RIF pozitif. Yayma pozitif tüm

örnekler kültür ve Xpert MTB/RIF pozitif idi (Tablo 2). Yayma negatif solunum örneklerinde Xpert MTB/RIF için duyarlılık %84.6, özgüllük %100 iken, solunum dışı örneklerde duyarlılık %60, özgüllük %100 olarak saptandı. Yayma pozitif solunum ve solunum dışı örneklerde ise duyarlılık ve özgüllük %100 olarak saptandı.

Yayma, kültür ve Xpert MTB/RIF'dan oluşan üç laboratuvar metodunun performansı, klinik, radyolojik ve laboratuvar kanıtlar göz önüne alınarak kesinleşen TB sonuçlarına göre hesaplandı. Örnek türüne göre testlerin duyarlılık, özgüllük, pozitif prediktivite (PPD) ve negatif prediktivite değerleri (NPD) Tablo 3'te gösterilmiştir. Buna göre yayma mikroskopisinin solu-

Tablo 2. Klinik örnekler göre yayma, kültür ve Xpert MTB/RIF pozitiflik oranlarının dağılımı.

	Yayma negatif (n:215)				Yayma pozitif (n:14)			
	KnXn	KnXp	KpXn	KpXp	KnXn	KnXp	KpXn	KpXp
Solunum örnekleri (N: 189)								
Balgam (N: 126)	107	2	2	7	0	0	0	8
Bronş lavajı (N: 61)	54	0	0	2	0	0	0	5
Derin trakeal aspirat (N: 2)	2	0	0	0	0	0	0	0
Solunum dışı örnekler (N: 40)								
Steril vücut sıvısı (N: 29)								
Plevra (N: 23)	22	0	1	0	0	0	0	0
Perikard (N: 2)	2	0	0	0	0	0	0	0
BOS (N: 2)	2	0	0	0	0	0	0	0
Eklem (N: 2)	2	0	0	0	0	0	0	0
İdrar (N: 2)	2	0	0	0	0	0	0	0
Lenfadenopati (N: 6)	3	2	0	0	0	0	0	1
Abse (N: 2)	1	0	0	1	0	0	0	0
Diğer (N: 1)	1	0	0	0	0	0	0	0

(Kn: Kültür negatif, Xn: Xpert negatif, Kp: Kültür pozitif, Xp: Xpert pozitif)

Tablo 3. Örnek türlerine göre yayma, kültür ve Xpert MTB/RIF'in performans yüzdeleri.

	Duyarlılık (%)	Özgüllük (%)	PPD (%)	NPD (%)
Balgam				
Yayma	42.1	100	100	90.6
Kültür	89.4	100	100	98.1
Xpert MTB/RIF	89.4	100	100	98.1
Bronş lavajı				
Yayma	71.4	100	100	94.7
Kültür	100	100	100	100
Xpert MTB/RIF	100	100	100	100
Solunum dışı örnekler				
Yayma	20	100	100	89.7
Kültür	60	100	100	94.6
Xpert MTB/RIF	80	100	100	97.2

Tablo 4. Kesin TB'lu hastalarda ARB ve Xpert MTB/RIF kategorilerinin karşılaştırımı.

Xpert MTB/RIF	ARB					Total
	Negatif	1 (+)	2 (++)	3 (+++)	4 (++++)	
Negatif	1	0	0	0	0	1
Çok düşük	2	2	0	0	0	4
Düşük	5	1	0	0	0	6
Orta	6	0	4	0	0	10
Yüksek	1	0	0	2	2	5
Total	15	3	4	2	2	26

Tablo 5. Yayma negatif örneğe göre Xpert MTB/RIF kategorileri.

Xpert MTB/RIF	Yayma negatif örnekler				TOPLAM
	Balgam	Bronş lavajı	Lenf nodu aspiratı	Apse	
Çok düşük	1	1	0	0	2
Düşük	3	0	1	1	5
Orta	4	1	1	0	6
Yüksek	1	0	0	0	1
TOPLAM	9	2	2	1	14

num dışı örnekler için en düşük, bronş lavajı için en yüksek duyarlılığa sahip olduğu, Xpert MTB/RIF'in solunum örneklerinde kültür ile aynı, solunum dışı örneklerde nispeten daha yüksek duyarlılığa sahip olduğu, tüm testlerin solunum ve solunum dışı örneklerde özgüllük ve PPD değerlerinin %100 olduğu saptanmıştır. Çalışmamızda, bronş lavajı örneklerinin balgama göre her üç test için daha yüksek duyarlılık/özgüllük gösterdiği saptanmıştır (Tablo 3).

XpertMTB/RIF sisteminde *M. tuberculosis* complex için pozitif sonuçlar Cycle threshold (Ct) aralıkları (yüksek, <16; orta, 16-22; düşük, 22-28; çok düşük, >28) ile tanımlanan bakteri konsantrasyonunun semikantitatif tahmini şeklinde, Rifampin direnç durumu ise, duyarlı-dirençli olarak rapor edilmektedir. Bu derecelendirme, ARB'nin derecelendirimi ile karşılaştırılmıştır. Kesin TB tanısı alan 26 hastadan 15 (%57.7)'i ARB negatif idi. Biri aynı zamanda XpertMTB/RIF negatif fakat kültür pozitif idi. Kalan 14 ARB negatif hastanın Xpert MTB/RIFpozitiflik derecelendirimi, "çok düşük"ten "yükseğe" kadar değişmekteydi. Çalışmamızda, ARB ile Xpert MTB/RIF uyumu ARB

Tablo 6. Yöntemler arası uyum [Kappa coefficient test (κ)].

Tanı metodu	κ
Yayma-Kültür	0.655
Yayma-Xpert MTB/RIF	0.637
Kültür-Xpert MTB/RIF	0.855
ARB derecelendirme-Xpert derecelendirme	0.421

pozitif örneklerde daha iyiydi (Tablo 4). ARB 1(+) örnekler Xpert MTB/RIF'in "düşük" veya "çok düşük" kategorisinde; ARB 2(+) örnekler "orta" kategorisinde; ARB 3(+) ve 4(+) örnekler "yüksek" kategorisinde yer almaktaydı.

Yayma negatif Xpert MTB/RIF pozitif (YNXP) örneklerin dağılımı Tablo 5'te gösterilmiştir. YNXP örneklerin çoğunluğu (%64) balgam örnekleriydi. ARB'nin yalancı negatifliği balgam örneklerinde %52.9 bronş lavajı örneklerinde %28 idi ($p<0.001$).

Çalışmamızda, *M. tuberculosis* saptanan örneklerin hiç birinde rifampisin direncine rastlanmadı.

Tanıda kullanılan yöntemlerin ikili olarak yapılan uyum analizinde kültür ve XpertMTB/RIF arasında "çok iyi" düzeyde uyum, yayma-kültür ve yayma-XpertMTB/RIF arasında "iyi" düzeyde uyum saptanmış, ARB derecelendirme ile XpertMTB/RIF derecelendirme arasında orta düzeyde uyum saptanmıştır (Tablo 6).

TARTIŞMA

Dünya Sağlık Örgütü 2010 yılında Xpert MTB/RIF (Cepheid, Sunnyvale, Kaliforniya, ABD) sistemini çok ilaca dirençli (ÇİD)-TB veya HIV ilişkili TB riski olan hastalarda başlangıç tanı metodu ve ÇİD -TB veya HIV için düşük prevalansa sahip bölgelerde balgam mikroskopisini takiben kullanılabilir hızlı, otomatize nükleik asit amplifikasyon testi (NAAT) olarak önermiş ve onaylamıştır⁽¹²⁾. 2013 yılında ise FDA (US Food Drug Administration) tarafından sistemin hasta başı test cihazı olarak balgam örneklerinde valide olduğu bildirilmiş, sistemin piyasaya sunulması için ruhsat verilmiştir^(13,14). Bu sistem *M. tuberculosis* complex DNA ve rifampisin direnci ile ilişkili rpo-B gen mutasyonunu belirleyen yarı kantitatif, real-time polimeraz zincir reaksiyonudur.

Sistemin mikobakteri kültürü ile karşılaştırıldığı birçok çalışma yapılmıştır. Çalışmaların bir kısmı yalnızca FDA'nın onay verdiği solunum örneklerinde yapılmıştır. Steingart ve ark.⁽¹⁵⁾ tarafından 2010-2013 yılları arasında, akciğer tüberkülozu tanılı hastalarda Xpert MTB/RIF ile yapılmış 22 çalışmanın metaanalizi sonucu, bu sistemin, yayma mikroskopisi sonuçları göz önüne alınmaksızın yapılan duyarlılık tahminlerinin %58-100; özgüllük tahminlerinin %86-100 arasında değiştiği, fakat kümelenmenin duyarlılık için %89 ve özgüllük için %99 civarında olduğu bildirilmiştir. Bununla birlikte, sistemin onay aldığı tarihten bu yana yöntem performanslarının karşılaştırıldığı çalışmalarda, kesin TB tanısı ya yalnızca kültür sonuçları baz alınarak⁽¹⁶⁻¹⁸⁾ ya da klinik/radyolojik ve laboratuvar sonuçları birlikte değerlendirilerek^(19,20) konulduğundan, birbirinden çok farklı sonuçlar elde edilebilmiştir. Örneklerin solunum ya da solunum dışı olması ve yayma pozitif veya negatif olması da performans yüzdelere etkilemiştir.

Geleta DA ve ark.⁽¹⁶⁾ MGIT ve/veya LJ besiyeri ile *M. tuberculosis* complex (MTBC)'i balgam örneklerinin %25.5'inde saptamış, pozitif örneklerin yayma ve Xpert MTB/RIF ile saptanma oranlarını sırasıyla %36.2 ve %65.5 olarak bildirmiştir. Xpert MTB/RIF'in duyar-

lılık oranlarını yayma-pozitif kültür-pozitif olgularda %95.2, yayma-negatif kültür-pozitif olgularda %48.6 olarak belirlemiştir. Theron G ve ark.⁽¹⁷⁾ balgam örneklerinde %29 TB pozitiflik saptamış ve bunları kesin TB vakası olarak tanımlamışlardır. Olguların %67'si yayma ve kültür-pozitif, %33'ü yayma-negatif, kültür-pozitif olarak saptanmıştır. Yayma ve kültür-pozitif olguların %95'inde Xpert MTB/RIF ile de pozitiflik saptanmış, duyarlılık %95 (%95 CI=88-98), özgüllük %94 (%95 CI=91-96); yayma-negatif kültür-pozitif olgularda ise duyarlılık %46.8 (%95 CI=33.3-60.8), özgüllük %94.4 (%95 CI=91.4-96.4) olarak saptanmıştır. Rrezarta Bajrami ve ark.⁽¹⁸⁾ çoğunluğu solunum örnekleri olmak üzere solunum dışı örneklerle de çalıştıkları araştırmalarında kültür ve Xpert MTB/RIF ile TB pozitiflik oranını %24.1 ve %29.3 olarak saptamış, Xpert MTB/RIF'in duyarlılık ve özgüllük oranlarını %93.3 ve %93.0 olarak bildirmiş, yayma ARB'ye göre istatistiksel olarak anlamlı oranda yüksek duyarlılığa sahip olduğunu saptamışlardır ($p<0.001$). Kawkitinarong K ve ark.⁽¹⁹⁾ çalışmasında yayma pozitif ve negatif, kültür-pozitif balgam örnekleri için Xpert MTB/RIF'in duyarlılık değerlerini sırasıyla %100 ve %81 olarak saptanmıştır. Ayrıca kültür negatif fakat klinik olarak TB olduğu kabul edilen hastalarda Xpert MTB/RIF'in duyarlılık ve pozitif prediktif değerleri %37.8 ve %83.8 olarak belirlenmiştir.

Ülkemizde yapılan çalışmalarda da benzer sonuçlar elde edilmiştir. Zeka AN ve ark.⁽²⁰⁾ klinik ve mikrobiyolojik olarak kesin TB olarak kabul edilen hastalarda Xpert MTB/RIF'in solunum örnekleri için duyarlılık ve özgüllük oranını %82.3 ve %100 olarak, negatif ve pozitif prediktif değeri ise %94.6 ve %100 olarak saptamıştır. Solunum dışı örnekler için duyarlılık ve özgüllük sırasıyla %52.1 ve %100 olarak, NPD ve PPD %83.3 ve %100 olarak belirlenmiştir. Aynı çalışmada, yayma pozitif solunum ve solunum dışı örneklerde duyarlılık ve özgüllük %100; yayma negatif solunum örneklerinde duyarlılık %68.6, özgüllük %100, solunum dışı örneklerde duyarlılık %47.7, özgüllük %100 olarak saptanmıştır. Çavuşoğlu ve ark.⁽²¹⁾ kültüre kıyasla sistemin performansını değerlendirdikleri

çalışmada, solunum örnekleri için duyarlılık ve özgüllüğü %93.8 ve %98.8, NPD ve PPD'i %99.5 ve %86.5 olarak; solunum dışı örnekler için ise duyarlılık ve özgüllüğü %71.9 ve %99.3, NPD ve PPD'i %98.5 ve %85.2 olarak bulmuştur. Duyarlılık yayma pozitif solunum örneklerinde %100, yayma negatif örneklerde %83.3 olarak saptanmıştır. Özkütük ve ark.⁽²²⁾ da kültür sonuçları ile karşılaştırarak solunum yolu örnekleri için bu değerleri sırasıyla %80.8, %98.8, %84.9, %98.4, solunum dışı örnekler için ise %58.2, %98.4, %66.7, %97.7 olarak belirlemişlerdir. Tüm yayma negatif örneklerdeki Xpert MTB/RIF duyarlılığını %39.7, özgüllüğünü %99.1, yayma pozitif örneklerde ise duyarlılığı %100, özgüllüğü, %58 olarak belirlemişlerdir.

Bizim çalışmamızda, çoğunluğu (%82.5) solunum örnekleri olmak üzere solunum ve/veya solunum dışı örnekleri test edilen hastaların %12.4'ü klinik, radyolojik ve laboratuvar olarak kesin TB tanısı almış olup, yayma negatif solunum örneklerinde Xpert MTB/RIF için duyarlılık %91.6, özgüllük %99.3 iken, solunum dışı örneklerde duyarlılık %75, özgüllük %97.2, yayma pozitif solunum ve solunum dışı örneklerde ise duyarlılık ve özgüllük %100 olarak saptandı. Çalışmamızda, yayma negatif solunum örneklerindeki yüksek duyarlılık, klinisyenle iletişim sonrası balgam örneğinde negatiflik saptanan hastalardan bronş lavajı alınarak burada Xpert MTB/RIF ile pozitif sonuç elde edilmesi nedeniyle olabilir. NPD ve PPD oranları ise solunum örnekleri için %100 ve %82, solunum dışı örnekler için %97.2 ve %100 idi. Dolayısıyla Xpert MTB/RIF ile solunum örneklerinde saptanan negatiflik gerçek negatifliği, solunum dışı örneklerde saptanan pozitiflik de gerçek pozitifliği mükemmel derecede tahmin ettirmiştir.

Çalışmamızda, Xpert MTB/RIF'in solunum örnekleri için duyarlılık değerleri balgam ve bronş lavajı örneklerinde sırasıyla %94.4 ve %100 olarak belirlenmiştir. Bu sonuç balgam örneklerinin bronş sıvısından daha yüksek duyarlılığa sahip olduğu saptanan Özkütük ve ark.⁽²²⁾ ve Lee ve ark.'nın⁽²³⁾ sonuçlarından farklı, Sharma ve ark.'nın⁽²⁴⁾ sonuçlarına (balgamda %96.9

bronş sıvısında %100) benzer bulunmuştur. Bronş lavajı örnekleri çalışmamızda balgam ile yalancı negatiflik saptanan klinik tüberküloz hastaları için Xpert MTB/RIF pozitifliğinin saptanması ile kesin tanı konulmasında yardımcı/destekleyici bir örnek olarak değerlendirilmiştir. Daha fazla olgu için bu karşılaştırmanın yapılması anlamlı veriler sağlayacaktır. Çalışmamızda solunum dışı örnekler için duyarlılık %80, özgüllük %100 olarak saptanmıştır. Bu sonuç, literatürdeki birçok çalışmaya göre yüksek kalırken, Çavuşoğlu ve ark.'nın⁽²²⁾ sonuçlarına benzerdir. Çalışmamızda steril vücut sıvı örneklerinin çoğunluğunu (%79) oluşturan plevra sıvısı örneklerinin birinde (1/23) kültür pozitif, Xpert MTB/RIF negatif olarak saptanmıştır. Zeka AN ve ark.⁽²⁰⁾ da sekiz plevra sıvısının dördünü kültür pozitif, Xpert MTB/RIF negatif olarak saptamıştır. Özkütük ve ark.⁽²²⁾ da plevra örneklerinde Xpert'in duyarlılığını düşük (%40) bulmuştur. Bu sonuç, FDA'nın raporunda⁽¹³⁾ belirtildiği gibi steril vücut sıvısı örneklerinin içerdiği bakteri miktarının çok düşük olması ve dolayısıyla sistemin en düşük bakteri saptama düzeyinin altında (<131 cfu/ml) kalmasından ve sıvı içerisinde bakteri genomunun çoğaltılmasını inhibe eden maddelerin bulunmasından dolayı olabilir ve literatüre uyumludur.

Klinik olarak TB düşünülen hastalar için hızlı tanı olanağı sağlayan yayma mikroskopisi sonuçları Xpert MTB/RIF sonuçları ile kategorik olarak karşılaştırılmış, bununla ilgili olarak farklı sonuçlar elde edilmiştir. Theron G ve ark.⁽¹⁷⁾ cihazın Ct değerinin yayma pozitif örneklerde negatif olanlara kıyasla anlamlı oranda daha düşük olduğunu (sırasıyla; 22 ± 0.5 ve 32 ± 0.9), ARB derecesi arttıkça Ct değerinin düştüğünü saptamışlardır. Marlowe ve ark.⁽²⁵⁾ yayma negatif örneklerin %34.4'ünü, 1+ ve 2+ olan örneklerin %71.4'ünü, ARB 3+ olan örneklerin %85.7'sini, ARB 4+ olan örneklerin %62.8'ini Xpert MTB/RIF ile pozitif olarak saptamışlardır. Çalışmamızda, yayma negatif örneklerin %6.2'si, yayma pozitif örneklerin tamamı bu sistem ile pozitif olarak saptandı; ARB 1+ ve 2+ örnekler Xpert MTB/RIF ile "orta" kategorisine kadar, 3+ ve 4+ örnekler ise "yüksek" kategorisinde PCR pozitif olarak saptandı. Çalışmamızda ayrıca yayma

negatif –Xpert MTB/RIF pozitif örneklerin çoğunluğunun (%64.2) balgam örneği olduğu, baskın çoğunluğunun (%96.4) çok düşük– orta kategorileri arasında yer aldığı saptanmıştır.

Çalışmamızda, örnek türlerine göre metodların ayrı ayrı performansı incelendiğinde, yayma mikroskopisinin tüm örnek türleri için duyarlılığı en düşük yöntem olduğu, kültür ve Xpert MTB/RIF'in özellikle solunum örneklerinde kusursuz performansa sahip olduğu, steril vücut sıvılarında ise kültürün Xpert MTB/RIF'e göre daha yüksek performansa sahip olduğu saptandı. Örnek sayısı az olmakla birlikte, lenf nodu aspirasyon materyali için Xpert MTB/RIF en iyi tanı koydurucu metod idi. Lightelm ve ark.⁽²⁶⁾ servikal lenfadenitte ince iğne aspirasyon materyallerinde Xpert MTB/RIF duyarlılık ve özgüllüklerini %96.7 ve %88.9 olarak saptamışlardır, Ablando Terrazas Y ve ark.⁽²⁷⁾ da HIV enfekte bireylerde servikal lenfadenit tanısında lenf nodu biyopsi örneklerinde Xpert MTB/RIF'in %100 duyarlılık ve özgüllük oranı ile doğru ve hızlı tanı imkanı sağladığını bildirmişlerdir. Sonuçlarımız literatüre uyumlu bulunmakla birlikte, özellikle solunum dışı örnek sayısının az olması istatistiksel açıdan anlamlılık değerlendirmesi yapmak için yeterli değildir.

Buna ek olarak, tanıda kullanılan yöntemlerin ikili olarak yapılan uyum analizinde kültür ve XpertMTB/RIF arasında çok iyi düzeyde uyum, yayma- kültür ve yayma- XpertMTB/RIF arasında iyi, ARB derecelendirme ile Xpert MTB/RIF derecelendirme arasında orta düzeyde uyum saptanmıştır.

Sonuç olarak, bu çalışmada, Xpert MTB/RIF sisteminin ekonomik kısıtlılıklar ve uygun olmayan fiziki koşulları nedeniyle sıvı bazlı otomatize kültür ve anti-biyogram sistemlerinin kurulması olası olmayan düşük örnek kapasiteli mikobakteri laboratuvarları için, bu bakterinin oldukça kısa süre içerisinde ve yüksek duyarlılık oranlarıyla saptanmasını ve beraberinde rifampisin direncini vererek antimikobakteriyel direncin tahmin edilmesini olası kılması nedeniyle, klinisyenler için özellikle akciğer tüberkülozu için

oldukça yardımcı ve güvenilir bir sistem olarak belirlenmiştir. Sistemin akciğer dışı tüberküloz olgularının ayırıcı tanısında kullanımının sağlanabilmesi için solunum dışı örneklerde de kullanımının valide edilmesi, bunun için gerekli altyapının tamamlanması üretici firma için öncelik olmalıdır.

KAYNAKLAR

1. Center for Disease control and Prevention (CDC) . Core Curriculum on Tuberculosis. What the clinician should know. Chapter 2 Transmission and pathogenesis of tuberculosis. CDC, 2013. <https://www.cdc.gov/tb/education/corecurr/pdf/chapter2.pdf> (Erişim Tarihi: Nisan 2018)
2. World Health Organization. Global Tuberculosis Report 2018. WHO, 2018 https://www.who.int/tb/publications/global_report/en/ (Erişim Tarihi: Nisan 2018)
3. Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü. Türkiye'de Verem Savaşı 2018 raporu. Sağlık Bakanlığı Yayın No:1109, Ankara. 2018. <https://www.toraks.org.tr/userfiles/file/Turkiyede-Verem-Savas-2018-Raporu.pdf> (Erişim Tarihi: Nisan 2018)
4. World Health Organization. Global Tuberculosis Report 2017. WHO/HTM/TB, 2017.23 https://www.who.int/tb/publications/global_report/gtbr2017_main_text.pdf (Erişim Tarihi: Nisan 2018)
5. Lipsky BA, Gates J, Tenover FC, Plorde JJ. Factors affecting the clinical value of microscopy for acid-fast bacilli. *Rev Infect Dis.* 1984;6(2):214-22. <https://doi.org/10.1093/clinids/6.2.214>
6. Pfyffer GE. Mycobacterium: General characteristics, laboratory detection and staining procedures. In: *Manual of Clinical Microbiology*, 9th Edition. Murray PR, et al. Washington, DC: ASM Press. 2007:543-72.
7. Pai M, Minion J, Sohn H, Zwerling A, Perkins MD. Novel and improved technologies for tuberculosis diagnosis: progress and challenges. *Clin Chest Med.* 2009;30(4):701-16. <https://doi.org/10.1016/j.ccm.2009.08.016>
8. World Health Organization. Tuberculosis Laboratory Biosafety Manual. WHO, 2012. <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/77949/1/9789241504638eng.pdf> (Erişim Tarihi: Nisan 2018)
9. T.C. Sağlık Bakanlığı Tüberküloz laboratuvarlarının çalışma usul ve esaslarına dair tebliğ. Resmi Gazete 25.10.2015 (No:29513)
10. Ulusal Tüberküloz Tanı Rehberi. Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Sağlık Bakanlığı Yayın No:935, Ankara, 2014.
11. Center for Disease Control and Prevention (CDC). Core

- Curriculum on Tuberculosis. What the clinician should know. Chapter 4. Diagnosis of tuberculosis disease. CDC, 2013. <https://www.cdc.gov/tb/education/corecurr/pdf/chapter4.pdf> (Erişim Tarihi: Nisan 2018)
12. World Health Organization. Automated real-time nucleic acid amplification technology for rapid and simultaneous detection of tuberculosis and rifampicin resistance: Xpert MTB/RIF system. Policy statement. Geneva, Switzerland: WHO, 2011.
 13. US Food and Drug Administration. FDA permits marketing of first U.S. test labeled for simultaneous detection of tuberculosis bacteria and resistance to the antibiotic rifampin. Silver Spring, MD: FDA, 2013.
 14. US Food Drug Administration. Strategic priorities and effectiveness. 510 (k) Substantial equivalence determination decision summary. FDA, 2014. https://www.accessdata.fda.gov/cdrh_docs/reviews/K143302.pdf (Erişim Tarihi: Nisan 2018)
 15. Steingart KR, Schiller I, Horne DJ, Pai M, Boehme CC, Dendukuri N. Xpert® MTB/RIF assay for pulmonary tuberculosis and rifampicin resistance in adults. *Cochrane Database Syst Rev.* 2014;21(1):CD009593. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD009593.pub3>
 16. Geleta DA, Megerssa YC, Gudeta AN, Akalu GT, Debele MT, Tulu KD. Xpert MTB/RIF assay for diagnosis of pulmonary tuberculosis in sputum specimens in remote health care facility. *BMC Microbiol.* 2015;15:220. <https://doi.org/10.1186/s12866-015-0566-6>
 17. Theron G, Peter J, van Zyl-Smit R, et al. Evaluation of the Xpert MTB/RIF assay for the diagnosis of pulmonary tuberculosis in a high HIV prevalence setting. *Am J Respir Crit Care Med.* 2011;184(1):132-40. <https://doi.org/10.1164/rccm.201101-0056OC>
 18. Bajrami R, Mulliqi G, Kurti A, Lila G, Raka L. Comparison of GeneXpert MTB/RIF and conventional methods for the diagnosis of tuberculosis in Kosovo. *J Infect Dev Ctries.* 2016;10(4):418-22. <https://doi.org/10.3855/jidc.7569>.
 19. Kawkitinarong K, Suwanpimolkul G, Kateruttanakul P, et al. Real-life clinical practice of using the Xpert MTB/RIF assay in Thailand. *Clin Infect Dis.* 2017;64(Suppl2):S171-8. <https://doi.org/10.1093/cid/cix151>
 20. Zeka AN, Tasbakan S, Cavusoglu C. Evaluation of the GeneXpert MTB/RIF assay for rapid diagnosis of tuberculosis and detection of rifampin resistance in pulmonary and extrapulmonary specimens. *J Clin Microbiol.* 2011;49(12):4138-41. <https://doi.org/10.1128/JCM.05434-11>
 21. Çavuşoğlu C, Soylu M. Klinik örneklerden tüberküloz tanısı ve hızlı rifampisin direnci saptanmasında GeneXpert MTB/RIF testinin performansının değerlendirilmesi. *Turk Mikrobiyol Cem Derg.* 2014;44(2):61-4. <https://doi.org/10.5222/TMCD.2014.061>
 22. Özkütük N, Sürücüoğlu S. Orta prevalanslı bölgede akciğer ve akciğer dışı tüberküloz tanısında Xpert MTB/RIF testinin değerlendirilmesi. *Mikrobiyol Bul.* 2014;48(2):223-32. <https://doi.org/10.5578/mb.7456>
 23. Lee HY, Seong MW, Park SS, et al. Diagnostic accuracy of Xpert® MTB/RIF on bronchoscopy specimens in patients with suspected pulmonary tuberculosis. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2013;17(7):917-21. <https://doi.org/10.5588/ijtld.12.0885>
 24. Sharma SK, Kohli M, Yadav RN, et al. Evaluating the diagnostic accuracy of Xpert MTB/RIF assay in pulmonary tuberculosis. *PLoS One.* 2015;10(10):e0141011. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0141011>
 25. Marlowe EM, Novak-Weekley SM, et al. Evaluation of the Cepheid Xpert MTB/RIF assay for direct detection of *Mycobacterium tuberculosis* complex in respiratory specimens. *J Clin Microbiol.* 2011;49(4):1621-3. <https://doi.org/10.1128/JCM.02214-10>
 26. Ligthelm LJ, Nicol MP, Hoek KG, et al. Xpert MTB/RIF for rapid diagnosis of tuberculous lymphadenitis from fine-needle aspiration biopsy specimens. *J Clin Microbiol.* 2011;49(11):3967-70. <https://doi.org/10.1128/JCM.01310-11>.
 27. Ablanedo-Terrazas Y, Alvarado-de la Barrera C, Hernández-Juan R, Ruiz-Cruz M, Reyes-Terán G. Xpert MTB/RIF for diagnosis of tuberculous cervical lymphadenitis in HIV-infected patients. *Laryngoscope.* 2014;124(6):1382-5. <https://doi.org/10.1002/lary.24478>.