

Klinik Örneklerde *Mycobacterium tuberculosis*'in Saptanması ve Rifampin Direncinin Tespitinde Xpert MTB/RIF Testinin Tanısal Performansının Değerlendirilmesi*

Evaluation of the Diagnostic Performance of Xpert MTB/RIF Test for the Detection of *Mycobacterium tuberculosis* and Rifampin Resistance in Clinical Samples

Nafia Canan GÜRSOY, Yusuf YAKUPOĞULLARI, Mehmet Sait TEKEREKOĞLU, Barış OTLU

İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Malatya.
Inönü University Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Malatya, Turkey.

* Bu çalışma, 7. Ulusal Mikobakteri Sempozyumu (8-10 Mayıs 2015, Mersin)'nda poster olarak sunulmuştur.

Geliş Tarihi (Received): 04.12.2015 • Kabul Ediliş Tarihi (Accepted): 15.02.2016

ÖZ

Aktif tüberküloz (TB) olgularının hızlı ve doğru olarak saptanması, TB kontrol programının en önemli hedeflerinden biridir. Bu amaçla, etkenin izolasyonu, tiplendirilmesi ve ilaç direncinin belirlenmesi için her geçen gün yeni yöntemler geliştirilmektedir. Son yıllarda üretilmiş olan Xpert MTB/RIF (CepheidGeneXpert® System, ABD) testi; direkt klinik örnekten *Mycobacterium tuberculosis* kompleksi ve suşun rifampin (RIF) direncini birkaç saat içinde saptayan, gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu temelli bir yöntemdir. Ancak testin özellikle akciğer-dışı örnekler ve balgam dışındaki akciğer örneklerindeki performansı hakkında halen yeterli veri bulunmamaktadır. Bu çalışmada, Xpert MTB/RIF testinin akciğer ve akciğer-dışı klinik örneklerde *M. tuberculosis*'i saptamadaki duyarlılık, özgüllük, pozitif ve negatif tahmin değerlerinin araştırılması ve izolatların RIF direncini belirlemedeki performansı araştırılmıştır. Çalışmaya, Temmuz 2013-Aralık 2014 tarihleri arasında laboratuvarımıza gönderilen 1141 (%52.8) akciğer ve 1019 (%47.2) akciğer-dışı olmak üzere toplam 2160 klinik örnek dahil edilmiştir. Değerlendirilen örneklerden 67'si (%3.1) mikroskopi (aside dirençli boyama; ARB), 116'sı (%5.4) kültür ve 98'i (%4.5) Xpert MTB/RIF testi ile pozitif bulunmuştur. Kültür sonuçları referans olarak alındığında; Xpert MTB/RIF testinin duyarlılık ve özgüllüğü tüm örneklerde sırasıyla %73.3 ve %99.3; akciğer örneklerinde %77.5 ve %99.5; akciğer-dışı örneklerde ise %63.9 ve %99.2 olarak saptanmıştır. ARB pozitif örneklerde Xpert MTB/RIF testinin duyarlılığı %100, özgüllüğü %66.7; ARB negatif olanlarda ise sırasıyla %40.4 ve %99.4 olarak belirlenmiştir. Çalışmaya alınan tüm örnekler içinde yalnızca üç örnekte Xpert MTB/RIF testi ile RIF

İletişim (Correspondence): Dr. Nafia Canan GÜRSOY, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Malatya, Türkiye. **Tel (Phone):** +90 506 644 7770, **E-posta (E-mail):** canan.gursoy@inonu.edu.tr

direnci saptanmış ve bu sonuçlar fenotipik olarak da doğrulanmıştır (%100 uyum). Mikobakteriyel kültür sonuçlarına göre Xpert MTB/RIF testinin pozitif ve negatif öngörü değerleri, incelenen tüm örnekler için sırasıyla %86.7 ve %98.5; akciğer örnekleri için %92.5 ve %98.3; akciğer dışı örnekler için ise %74.2 ve %98.7 olarak bulunmuştur. Çalışmamızda elde edilen sonuçlara göre, Xpert MTB/RIF testinin akciğer-dışı örneklerde duyarlılığının orta düzeylerde olduğu saptanmış olup; özellikle basil yükünün az olduğu ARB negatif örneklerde testin duyarlılığının düştüğü görülmüştür. Buna karşın Xpert MTB/RIF testinin tüm örneklerde etkene özgüllüğü son derece yüksek bulunmuştur. Çalışmamızda az sayıda örnekte rifampine dirençli suş saptanmış olmakla birlikte, Xpert MTB/RIF testi tüm dirençli ve duyarlı suşları ayırt edebilmiştir. Ayrıca laboratuvarımızda, *M. tuberculosis*'in tespiti ve RIF direncinin belirlenmesi kültür ile ortalama 20.96 günü bulurken, Xpert MTB/RIF testi ile bu süre birkaç saate düşmektedir. Testin kullanım kolaylığı, hızlı olması ve minimum güvenlik önlemleri gerektirmesi nedeniyle, kültür yöntemi ile doğrulanmak şartıyla, Xpert MTB/RIF testinin, akciğer-dışı örneklerde de tüberkülozun hızlı tanısına katkı sağlayabileceği kanısına varılmıştır.

Anahtar sözcükler: Xpert MTB/RIF; *Mycobacterium tuberculosis* kompleks; tüberküloz; tanı; rifampin direnci.

ABSTRACT

Rapid and accurate detection of active tuberculosis (TB) cases is one of the most important goal of tuberculosis control programme. For this purpose, new methods are being developed to isolate, serotype and determine the drug resistance of the agent. Xpert MTB/RIF test (CepheidGeneXpert® System, USA) that has been recently developed, is a real-time polymerase chain reaction-based method which detects *Mycobacterium tuberculosis* complex and resistance of the strain to rifampicin (RIF) from the clinical sample directly within a couple of hours. However, there are not sufficient data about the performance of that test for extrapulmonary samples and pulmonary samples other than sputum. The aims of this study were to investigate the sensitivity, specificity, positive and negative predictive values of Xpert MTB/RIF test in detection of *M. tuberculosis* and the performance in the determination of rifampicin resistance of the isolates from pulmonary and extrapulmonary clinical samples. A total of 2160 clinical samples, in which 1141 (52.8%) were pulmonary and 1019 (47.2%) were extrapulmonary samples, sent to our laboratory between July 2013 to December 2014, were included in the study. Sixty seven of the evaluated samples (3.1%) were positive with microscopy (acid-fast stain; AFS), 116 samples (5.1%) were positive with culture and 98 samples (4.5%) were positive with Xpert MTB/RIF test. When the culture was considered as the reference method, the sensitivity and specificity of Xpert MTB/RIF test were determined as 73.3% and 99.3%, respectively for all samples; 77.5% and 99.5%, respectively for pulmonary samples and 63.9% and 99.2%, respectively for extrapulmonary samples. Among AFS positive samples, the sensitivity was 100% and specificity was 66.7%; whereas among AFS negative samples those values were 40.4% and 99.4%, respectively. Among all the samples involved in the study, RIF resistance was determined only in three samples with Xpert MTB/RIF test and that was also proved phenotypically (100% concordance). According to mycobacterial culture results, positive and negative predictive values of Xpert MTB/RIF test were determined as 86.7% and 98.5%, respectively for all samples. Those were determined as 92.5% and 98.3%, respectively for extrapulmonary samples and were determined as 74.2 and 98.7%, respectively for pulmonary samples. According to the results obtained in our study, sensitivity of Xpert MTB/RIF test for extrapulmonary samples was found to be at moderate level; sensitivity of the test was found to be decreased especially in AFS negative samples with less bacilli load. Nonetheless, specificity of Xpert MTB/RIF test to the agent in all samples was found to be extremely high. In our study, although RIF-resistant strains were detected in few of the samples, Xpert MTB/RIF test could differentiate all resistant and sensitive strains. Additionally, detection of *M. tuberculosis* and RIF resistance in our laboratory takes approximately 20.96 days with culture, this period decreases to a couple of hours with Xpert MTB/RIF test. Because of the advantages such as being practical, rapid and requiring minimal safety measures, it was concluded that Xpert MTB/RIF test may contribute to rapid diagnosis of TB also in extrapulmonary samples, with the confirmation of culture method.

Keywords: Xpert MTB/RIF; *Mycobacterium tuberculosis* complex; tuberculosis; diagnosis; rifampicin resistance.

GİRİŞ

Tüberküloz (TB), her yıl milyonlarca yeni olgudan sorumlu küresel bir sağlık sorunudur. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)'nün 2015 yılı raporuna göre; 2014 yılında 9.6 milyon yeni TB olgusu görülmüş, 1.5 milyon kişi ise TB nedeniyle hayatını kaybetmiştir. Aynı raporda ülkemiz, 22/100.000 prevalans ve 18/100.000 insidans oranları ile orta düzey TB prevalansına sahip olarak değerlendirilmiştir¹.

Tüberkülozun kesin tanısının yapılması ve etkin tedavinin başlanması, hastalığın kontrol edilmesinde kritik öneme sahiptir. Aktif TB olgularının ve çoğul ilaç dirençli (ÇİD) suşların hızlı tanısının, TB nedenli morbidite ve mortaliteyi azaltacağı ve etkenin toplumda yayılımının önlenmesine katkıda bulunacağı bildirilmektedir^{2,3}. Ancak, TB basilinin kültürde üretilmesi, tanımlanma süreçleri ve ilaç duyarlılığının belirlenmesi zaman alıcı (4-8 hafta) ve güç laboratuvar işlemlerini gerektirmektedir. Geliştirilen otomatize kültür, tanımlama ve duyarlılık sistemleri ile örnekteki canlı basil yüküne göre bu süreler 10-12 güne kadar indirilebilmiş olmasına rağmen, bu süre halen istenilen düzeyde değildir²⁻⁴.

XpertMTB/RIF testi (Cepheid, ABD), eş zamanlı olarak *M. tuberculosis* varlığı ile rifampin (RIF) direncini direkt hasta örneğinden iki saatten kısa bir sürede saptayabilen kolay ve hızlı nükleik asit amplifikasyon testi olarak son yıllarda kullanıma girmiştir⁵. Günümüz itibarıyla DSÖ¹ ve Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (Food and Drug Administration, FDA)⁶ tarafından balgam örneklerinde *M. tuberculosis* ve RIF direncinin saptanmasında önerilen bir test kiti olmuştur. Akciğer dışı örnekler ve aside dirençli boyama (ARB) ile negatif bulunan örneklerde ise testin duyarlılığının düştüğü ile ilgili farklı bildirimler mevcuttur^{7,8}. Ancak bu testin, özellikle akciğer dışı örneklerde ve balgam dışı akciğer örneklerindeki tanısal performansını gösteren çalışma sayısı sınırlı olup, ülkemizde yapılan araştırmalar ise daha azdır⁹⁻¹². Bu çalışmada, hastanemiz TB tanı laboratuvarında yaklaşık 1.5 yıllık dönemde çalışılan akciğer ve akciğer dışı örneklerde basilin saptanması ve etkenin rifampin direncinin belirlenmesinde XpertMTB/RIF testinin performansının araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmada; İnönü Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Mikobakteriyoloji Laboratuvarına, Temmuz 2013-Aralık 2014 tarihleri arasında gönderilen toplam 2160 klinik örneğe ait veriler geriye dönük olarak değerlendirildi. Aynı hastadan gelen tekrar örnekleri, kültürde kontaminasyon saptanan örnekler, tüberküloz dışı mikobakteri üreyen örnekler ve Xpert MTB/RIF testi çalışılmamış örnekler çalışma dışında bırakıldı.

Akciğer örnekleri ve diğer steril olmayan klinik örnekler, standart N-asetil-L-sistein (NALC) + sodyum hidroksit (NaOH) yöntemiyle homojenizasyon/dekontaminasyon işlemine alındı¹³. Steril kabul edilen örnekler, dekontamine edilmeden santrifüj edildikten sonra veya örnek 10 ml'den az ise doğrudan kullanıldı. Mikroskopik incelemede Ehrlich Ziehl-Neelsen (EZN) boyama yöntemi uygulandı; kültür için Löwenstein Jensen (LJ) katı besiyerine (Salubris, Türkiye) ve VersaTREK (Trek Diagnostic Systems, ABD) sıvı besiyerine ekim yapıldı. Kültür pozitif örnekler; EZN boyama yöntemiyle mikroskopik olarak incele-

nerek kontaminasyon ihtimali dışlandı ve ARB pozitif örnekler, MPT64 antijen testi (SD Bioline TB Ag MPT64 Rapid; Standard Diagnostics Inc., Güney Kore) ile tür düzeyinde tanımlandı. *M. tuberculosis* kompleks olarak tanımlanan izolatların ilaç duyarlılığı VersaTREK sistemi ile değerlendirildi ve RIF direnci için kritik konsantrasyon 1 µg/ml olarak alındı. Xpert MTB/RIF testi üretici firmanın önerilerine göre çalışıldı. DSÖ'nün referans yöntem olarak önerdiği kültür testi esas alınarak; Xpert MTB/RIF testi sonuçlarının duyarlılık, özgüllük, pozitif (PTD) ve negatif (NTD) tahmin değerleri hesaplandı.

Laboratuvarımız; T.C. Sağlık Bakanlığı Türkiye Halk Sağlığı Kurumu tarafından sağlanan "Ulusal Tüberküloz Referans Laboratuvarı Dış Kalite Değerlendirme Programı" kapsamında değerlendirilmektedir.

BULGULAR

Çalışmaya alınan toplam 2160 klinik örneğin 1141'i (%52.8) akciğer ve 1019'u (%47.2) akciğer-dışı örneklerden oluşmaktadır. Tüm örneklerin 116'sında (%5.4) kültürde *M.tuberculosis* üremiş ve 98'inde (%4.5) Xpert MTB/RIF testi pozitif bulunmuştur. Örneklerin EZN boyamasında, 67 (%3.1) örnekte ARB pozitifliği saptanmıştır. Akciğer örneklerinde ARB, MTB/RIF testi ve kültür pozitifliği sırasıyla %4.6, %5.9, %7 iken; akciğer-dışı örneklerde bu değerler %1.4, %3 ve %3.5 olarak bulunmuştur. Örnek türü ve dağılımına göre testlerin pozitiflik durumları Tablo 1'de gösterilmiştir.

Otomatize kültür ve duyarlılık sisteminde, izole edilen 116 suşun yalnızca üçünde (%2.6) rifampin direnci saptanmış olup, geri kalan 113 (%97.4) örnek rifampine duyarlı olarak bulunmuştur. Xpert MTB/RIF yöntemi ile bu üç dirençli suş tam olarak saptanmış ve geri kalan suşlar ise rifampine duyarlı olarak tanımlanmıştır.

Aside dirençli boyama sonucu negatif olan örnekler içerisinde; kültürle doğrulanmayan, yalnızca Xpert MTB/RIF testi ile pozitif bulunan 12 (12/33) örnek ile ARB pozitif

Tablo 1. Değerlendirilen örneklerin tipine göre ARB, Xpert MTB/RIF ve kültür sonuçlarının dağılımı

Örnek Tipi		Toplam	ARB (+)	Xpert MTB/RIF (+)	Kültür (+)
Akciğer	Balgam	772	38	47	52
	BAL/BA	239	15	19	25
	AMS	130	0	1	3
	Toplam	1141	53	67	80
	SVS	300	2	7	8
	İdrar	169	0	0	1
Akciğer dışı	Apse	154	7	14	10
	BOS	134	0	0	2
	Doku	127	5	10	14
	Diğer	135	0	0	1
	Toplam	1019	14	31	36
Tüm örnekler		2160	67	98	116

BAL: Bronkoalveolar lavaj sıvısı; BA: Bronşiyal aspirat; BOS: Beyin omurilik sıvısı; SVS: Steril vücut sıvısı.

örnekler içerisinde yalnızca bir (1/65) örnek yalancı pozitif (YP) olarak değerlendirilmiştir. YP sonuçların 5'i akciğer, 8'i ise akciğer-dışı örneklerden oluşmaktadır. Bununla birlikte, YP olarak değerlendirilen 13 hastanın epikriz raporları incelendiğinde; bu hastalardan 9'unun daha önce klinik, radyolojik veya histopatolojik olarak TB tanısı almış ve antitüberküloz tedavi gören hastalar olduğu tespit edilmiştir. Antitüberküloz tedavi nedeniyle basil sayısındaki düşüş ve/veya ölü bakteriler; ARB ve kültür negatifliğini açıklamaktadır. Dolayısıyla yalnızca 4 (4/107) hastada Xpert MTB/RIF testi ile yalancı pozitiflik tespit edilmiştir. Yine ARB'si negatif olan; 18'i akciğer ve 13'ü akciğer-dışı olmak üzere toplam 31 (31/2060) örnekte Xpert MTB/RIF testi negatif, kültür pozitif olarak bulunmuş ve bu sonuçlar yalancı negatif (YN) olarak değerlendirilmiştir. ARB pozitif örneklerde YN sonuçla karşılaşılmamıştır.

Mikobakteriyel kültür sonuçları esas alındığında; çalışmamıza göre aside dirençli boyama yönteminin tüm örneklerdeki duyarlılığı %55.2, özgüllüğü %99.9; akciğer örnekleri için bu değerler sırasıyla %65 ve %99.9; akciğer dışı örnekleri için ise %33.3 ve %99.8 olarak bulunmuştur. Yine kültür sonuçlarına göre incelenen tüm örnekler için Xpert MTB/RIF testinin duyarlılığı %73.3, özgüllüğü %99.3, PTD %86.7 ve NDT %98.5 olarak hesaplanmıştır. Akciğer ve akciğer dışı örneklerde Xpert MTB/RIF testinin duyarlılık, özgüllük, PTD ve NTD değerleri Tablo II'de gösterilmiştir.

Laboratuvarımıza gönderilen örneklerden kültür ile *M. tuberculosis* kompleks (MTC)'in tespiti ortalama 20 günde (6-42 gün) sonuçlanmış ve rifampin direnci de eklendiğinde bu süre yaklaşık 10 gün daha uzamıştır. Buna karşın, Xpert MTB/RIF testi ile MTC'nin tespiti ve rifampin direncinin belirlenmesi aynı gün içerisinde sonuçlanmaktadır.

TARTIŞMA

Günümüzde TB tanısında halen ARB boyama ve kültür gibi geleneksel tanı yöntemleri kullanılmasına rağmen, yeni moleküler yöntemler tanısal algoritmaları değiştirecek gibi görünmektedir. Xpert MTB/RIF testi gibi kısa dönemde hızlı olgu tespitinin yanı sıra, ilaç direnç mutasyonlarını da eş zamanlı olarak tespit edebilen, duyarlılığı yüksek moleküler teknolojilerin boyalı mikroskopik incelemenin yerini alacağı düşünülmektedir^{1,6}.

Tablo II. Referans yöntem olarak kültür sonuçları ile karşılaştırıldığında ARB ve Xpert MTB/RIF testinin duyarlılık, özgüllük, pozitif (PTD) ve negatif (NTD) tahmin değerleri

		Duyarlılık (%)	Özgüllük (%)	PTD (%)	NTD (%)
ARB	Akciğer	65	99.9	98.1	97.4
	Akciğer-dışı	33.3	99.8	85.7	97.6
	Toplam	55.2	99.9	95.5	97.5
Xpert MTB/RIF	Akciğer	77.5	99.5	92.5	98.3
	Akciğer-dışı	63.9	99.2	74.2	98.7
	ARB (+)	100	66.7	98.5	100
	ARB (-)	40.4	99.4	63.6	98.5
	Toplam	73.3	99.3	86.7	98.5

Klinik örneklerden *M. tuberculosis* tespitinde, kültüre göre daha hızlı ve ucuz bir test olan boyalı mikroskopik inceleme yaygın olarak kullanılmakta ve yapılan çeşitli çalışmalarda ortalama %45-80 oranında duyarlılığa sahip olduğu bildirilmektedir^{2-4,10,11}. Akciğer örneklerinde ARB boyamanın duyarlılığı %89.5'e kadar yükselirken⁷, akciğer-dışı örneklerde %2'ye kadar düşebilmektedir¹⁴. Aynı çalışmalarda duyarlılık sonuçları Xpert MTB/RIF testi ile karşılaştırıldığında (%89.5'a karşı %97.1 ve %2'ye karşı %50) Xpert MTB/RIF testinin daha duyarlı olduğu bildirilmiştir^{7,14}. Çalışmamızda incelenen yöntemlerden boyalı mikroskopik incelemenin duyarlılığı, akciğer örneklerinde %65 ve akciğer-dışı örneklerde %33.3 olmak üzere, tüm örnekler için %55.2 olarak hesaplanmış ve Xpert MTB/RIF testinin çok daha duyarlı olduğu görülmüştür (sırasıyla; %77.5, 63.9 ve %73.3).

Yapılan çeşitli çalışmalarda; kültür ile karşılaştırıldığında Xpert MTB/RIF testinin duyarlılığı %33-100 ve özgüllüğü %58-100 arasında değişiklik göstermektedir^{2,3,5,7,8,10,11}. Testin performansındaki bu değişkenlik; çalışmanın planlandığı bölgenin TB prevalansı, örneklemin büyüklüğü, çalışmaya dahil edilen örnek tiplerindeki farklılık, örnek kalitesi, çalışılan klinik örneğin özellikle akciğer-dışı örneklerde olduğu gibi tuz, protein ve hücre kalıntıları açısından kompozisyonu ve örneğin basil yükü gibi durumlardan kaynaklanmaktadır^{5,11,14,15}. Toplam 2160 örneğin incelendiği çalışmamızda; ARB, Xpert MTB/RIF ve kültür pozitifliği sırasıyla %3.1, %4.5 ve %5.4 olarak saptanmıştır. Çalışmamıza dahil edilen tüm örneklerdeki Xpert MTB/RIF testinin duyarlılığı %73.3 ve özgüllüğü %99.3'dür. Bu sonuçların, bizimle benzer ARB pozitiflik oranlarına sahip Özkütük¹¹, Zeka¹⁰ ve Kim ve arkadaşlarının¹⁶ çalışmalarıyla uyumlu olduğu görülmektedir. Xpert MTB/RIF testinin duyarlılığının bizim sonuçlarımıza kıyasla son derece yüksek olduğu çalışmalarda (%88-100); incelenen örneklerin büyük bir kısmının basil yükü yoğun akciğer örneklerinden oluştuğu, özellikle de klinik bulgularına göre TB şüpheli hastaların seçildiği görülmektedir^{7,9,12}. Akciğer ve akciğer-dışı 595 örneğin incelendiği Bunsow ve arkadaşlarının⁷ çalışmasında da benzer şekilde, akciğer örneklerinin ARB ve kültür pozitiflikleri sırasıyla %23.1 ve %23.8 olup, çalışmamızdan son derece yüksek olan bu sonuçlar Xpert MTB/RIF testinin performansını da iyileştirmektedir. Yine alınan örneğin kalitesi de, hem ARB pozitifliğini hem de Xpert MTB/RIF testi duyarlılığını direkt olarak etkilemektedir.

Akciğer örneklerinde Xpert MTB/RIF testi duyarlılığının akciğer-dışı örneklere nazaran daima daha yüksek olduğu görülmektedir^{3,7,8,10,11,14,15}. Aralarında meta-analiz çalışmalarının da bulunduğu çeşitli çalışmalarda; Xpert MTB/RIF testinin akciğer örneklerindeki duyarlılığı %57-100 arasında değişirken, özgüllüğü %96-100 olarak bildirilmiştir^{2,7,8,10,11,17,18}. Özgüllük hemen tüm çalışmalarda yüksek değerlere sahipken, duyarlılıktaki değişkenliğin nedeni, çalışılan örnek tipindeki farklılık ve örneğin basil yükü gibi görünmektedir. Şimdiye kadar yapılan çalışmalarda Xpert MTB/RIF testi duyarlılığının akciğer örnekleri içerisinde balgam ve bronkoalveolar lavaj (BAL)'da en yüksek seviyeye çıktığı görülmekte ve hatta balgam için Xpert MTB/RIF testi duyarlılığının mükemmel doğruluğa sahip olduğu belirtilmektedir^{5,7,8,11,19}. Yine testin duyarlılığının yüksek olduğu çalışmalarda, Xpert MTB/RIF testinin rutin amaçlı kullanılmadığı, daha çok klinik olarak akciğer ve/veya akciğer-dışı TB şüpheli hastalara ait örneklerin çalışıldığı görülmektedir^{8,9,10,17,19}. Bizim merkezimizde TB tanı testleri genellikle tarama testi olarak istendiğin-

den, ARB, XpertMTB/RIF testi ve kültür pozitiflik oranlarımız diğer çalışmalardan^{3,5,9,12} daha düşük değerlerdedir. Çalışmamızda; tüm örneklerin %52.8'ini temsil eden akciğer örneklerindeki MTB/RIF testinin duyarlılık, özgüllük, PTD ve NTD sırasıyla %77.5, %99.5, %92.5 ve %98.3 olarak bulunmuştur. İncelenen akciğer örneklerindeki MTB/RIF testinin pozitifliği, BAL, balgam ve açlık mide suyu (AMS) örneklerinde sırasıyla %7.95, %6.09 ve %0.77 olup, benzer çalışmalarla uyumludur^{11,12}.

Toplamda 6026 örnek ve 27 araştırma sonuçlarının incelendiği Maynard-Smith ve arkadaşlarının¹⁵ çalışmasında; solunum yolu dışındaki örneklerde duyarlılığın aşırı derecede değişkenlik gösterdiği (%25-100), özgüllüğünün ise duyarlılığın aksine çalışmaların çoğunda çok yüksek olduğu (%73-%100) gösterilmiştir. Aynı çalışmada, duyarlılıktaki bu aşırı değişkenliğin nedeni olarak; ARB pozitiflik durumu, örnek tipi, düşük örnek miktarı, çalışma dizaynındaki farklılıklar, hasta seçimi, hastanın yaşı ve örnek toplama yöntemlerindeki farklılıklar gösterilmiştir¹⁵. Theron ve arkadaşları¹⁴ ise, 1321 klinik örneği incelemişler ve akciğer-dışı örneklerdeki düşük duyarlılığın, primer olarak örneğin içeriğindeki PCR inhibitör varlığından ziyade düşük mikobakteriyel yükten kaynaklandığını belirtmişlerdir. Bu araştırmacılar, BOS örneklerindeki "yalancı negatif" sonuçların PCR aşamasında inhibisyona neden olabilecek maddelerden ve yetersiz örnek miktarından kaynaklandığı sonucuna varmışlardır¹⁴. Ayrıca, yaklaşık 3 ml'lik BOS örneğinde, santrifüjün ardından elde edilen çökeltinin yıkanması ve tekrar tamponlanarak çalışılması durumunda, Xpert MTB/RIF testinin duyarlılığının %40'a kadar arttığı vurgulanmıştır¹⁴. Laboratuvarımıza yaklaşık 1-3 ml civarında gönderilen 134 BOS örneği içerisinde sadece ikisi kültür ile pozitif bulunurken, ARB ve Xpert MTB/RIF testi ile pozitiflik saptanamamıştır. Çalışmamızda, BOS da dahil olmak üzere, tüm akciğer-dışı örneklerde testin duyarlılığı %63.9 ve özgüllüğü %99.2 olarak bulunmuş; bu değerlerin ülkemizde yapılan benzer çalışmalar^{10,11} ile uyumlu olduğu görülmüştür.

Xpert MTB/RIF testinin duyarlılığı ile mikobakteriyel yükü temsil eden ARB pozitiflik durumu arasında çok güçlü bir ilişki bulunmaktadır. Yapılan çalışmalarda, hem akciğer hem de akciğer-dışı ARB pozitif örneklerde Xpert MTB/RIF testinin duyarlılığının ARB negatiflere kıyasla çok daha yüksek olduğu bildirilmektedir^{5,7,10,11,14,15,17}. Akciğer örneklerinde %4.6, akciğer dışı örneklerde ise %1.4 oranında ARB pozitifliği saptadığımız çalışmamızda; bu örneklerde Xpert MTB/RIF testinin duyarlılığı sırasıyla %100 ve %66.7, özgüllüğü ise sırasıyla %40.4 ve %99.4 olarak hesaplanmıştır. Maynard-Smith ve arkadaşları¹⁵ tarafından yapılan meta-analiz çalışmasında da benzer şekilde; ARB pozitif örneklerde Xpert MTB/RIF testinin duyarlılığının en yüksek değerlerde olduğu (0.96, 95% CI 0.91-1.00), en düşük duyarlılık oranlarının ise ARB negatif örneklerde gözlemlendiği belirtilmiştir (0.69, 95% CI 0.60-0.80).

Daha önce yapılan çalışmalarda, Xpert MTB/RIF testinin RIF direncini belirlemedeki duyarlılık ve özgüllüğü; %83.3-100 ve %87-100 arasında değişmektedir^{7,8,15,17,19}. Çalışmamızda RIF direnç tespitindeki performansı, yalnızca üç hastada direnç tespit edildiğinden değerlendirilememiştir. Bununla birlikte, Xpert MTB/RIF testi ile RIF'e dirençli olarak bulunan sonuçların tamamı, fenotipik yöntemle de doğrulanmıştır. RIF direncinin hızlı tespiti, özellikle düşük ve orta prevalanslı bölgelerde ÇİD suşlarının yayılımının en-

gellenmesinde son derece önemlidir. Ancak, yanlış pozitif bir sonuç ile gereksiz ÇİD TB tedavisi uygulanacağından, RIF'e direnç sonucu mutlaka antibiyotik duyarlılık testi ile doğrulanmalıdır.

Sonuç olarak, TB'nin moleküler tanısında kullanılan yöntemler içerisinde örnekten sonuca tüm işlemlerin otomatize yapıldığı, tek kapalı sistem olan Xpert MTB/RIF testinin, özellikle ARB pozitif örneklerdeki yüksek duyarlılığı nedeniyle güvenle kullanılabileceği görülmektedir. Ayrıca, ARB negatif ve akciğer-dışı örneklerde, mikroskopik incelemeye göre daha yüksek duyarlılıkta olması nedeniyle, özellikle klinik olarak şüpheli hastalarda TB'un hızlı tanısında kullanılabilmesi kanısına varılmıştır. Ek olarak, özgüllüğünün yüksek olması nedeniyle elde edilen pozitif sonuç, TB tedavisine başlamada güvenilir olacaktır. Yine RIF direnci şüphesi olan hastalarda da, *M. tuberculosis* ve RIF direncini eş zamanlı olarak ve yaklaşık iki saat içerisinde saptayabildiği düşünülürse, daha sonra mutlaka kültür ve antibiyotik duyarlılık testi ile doğrulanmak şartıyla, büyük avantaj sağlayacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1. World Health Organization. Global Tuberculosis Report 2015. WHO, Geneva, Switzerland. Available at: http://www.who.int/tb/publications/global_report/en
2. Park KS, Kim JY, Lee JW, et al. Comparison of the Xpert MTB/RIF and Cobas TaqMan MTB assays for detection of *Mycobacterium tuberculosis* in respiratory specimens. J Clin Microbiol 2013; 51(10): 3225-7.
3. Moure R, Muñoz L, Torres M, Santin M, Martín R, Alcaide F. Rapid detection of *Mycobacterium tuberculosis* complex and rifampin resistance in smear-negative clinical samples by use of an integrated real-time PCR method. J Clin Microbiol 2010; 49(3): 1137-9.
4. Durmaz R. Tüberkülozda hızlı moleküler tanı testleri. ANKEM Derg 2012; 26(Ek 2): 72-81.
5. Boehme CC, Nabeta P, Hillemann D, et al. Rapid molecular detection of tuberculosis and rifampin resistance. N Engl J Med 2010; 363(11): 1005-15.
6. Federal Drug Administration. Press release: FDA permits marketing of first U.S. test labeled for simultaneous detection of tuberculosis bacteria and resistance to the antibiotic rifampin. Available at: <http://www.fda.gov/NewsEvents/Newsroom/PressAnnouncements/ucm362602.htm>.
7. Bunsow E, Ruiz-Serrano MJ, López Roa P, Kestler M, Viedma DG, Bouza E. Evaluation of GeneXpert MTB/RIF for the detection of *Mycobacterium tuberculosis* and resistance to rifampin in clinical specimens. J Infect 2014; 68(4): 338-43.
8. Chang K, Lu W, Wang J, et al. Rapid and effective diagnosis of tuberculosis and rifampicin resistance with Xpert MTB/RIF assay: a meta-analysis. J Infect 2012; 64(6): 580-8.
9. Ciftçi IH, Aslan MH, Aşık G. Evaluation of Xpert MTB/RIF results for the detection of *Mycobacterium tuberculosis* in clinical samples. Mikrobiyol Bul 2011; 45(1): 43-7.
10. 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.
11. Ozkutuk N, Surucuoglu S. Evaluation of the Xpert MTB/RIF assay for the diagnosis of pulmonary and extrapulmonary tuberculosis in an intermediate-prevalence setting. Mikrobiyol Bul 2014; 48(2): 223-32.
12. Çelik C, Gözel MG, Bakıcı MZ, et al. Applicability of Xpert MTB/RIF assay for routine diagnosis of tuberculosis: a four years single center experience. Turk J Med Sci 2015; 45(6): 1329-34.

13. Kent PT, Kubica GP. Public Health Mycobacteriology: A Guide for the Level III Laboratory. 1985, U.S. Department of Health and Human Services, Atlanta, GA.
14. Theron G, Peter J, Calligaro G, et al. Determinants of PCR performance (Xpert MTB/RIF), including bacterial load and inhibition, for TB diagnosis using specimens from different body compartments. Sci Rep 2014; 4: 5658.
15. Maynard-Smith L, Larke N, Peters JA, Lawn SD. Diagnostic accuracy of the Xpert MTB/RIF assay for extrapulmonary and pulmonary tuberculosis when testing non-respiratory samples: a systematic review. BMC Infect Dis 2014; 14: 709.
16. Kim CH, Hyun IG, Hwang YI, et al. Identification of *Mycobacterium tuberculosis* and rifampin resistance in clinical specimens using the Xpert MTB/RIF assay. Ann Clin Lab Sci 2015; 45(1): 32-8.
17. Hu P, Bai L, Liu F. Evaluation of the Xpert MTB/RIF assay for diagnosis of tuberculosis and rifampin resistance in county-level laboratories in Hunan province, China. Chin Med J (Engl) 2014; 127(21): 3744-50.
18. Boehme CC, Nicol MP, Nabeta P, et al. Feasibility, diagnostic accuracy, and effectiveness of decentralised use of the Xpert MTB/RIF test for diagnosis of tuberculosis and multidrug resistance: a multicentre implementation study. Lancet 2011; 377(9776): 1495-505.
19. Khalil KF, Butt T. Diagnostic yield of bronchoalveolar lavage gene Xpert in smear-negative and sputum-scarce pulmonary tuberculosis. J Coll Physicians Surg Pak 2015; 25(2): 115-8.