

Orta Prevalanslı Bölgede Akciğer ve Akciğer Dışı Tüberküloz Tanısında Xpert MTB/RIF Testinin Değerlendirilmesi

Evaluation of the Xpert MTB/RIF Assay for the Diagnosis of Pulmonary and Extrapulmonary Tuberculosis in an Intermediate-Prevalence Setting

Nuri ÖZKÜTÜK¹, Süheyla SÜRÜCÜOĞLU¹

¹ Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Manisa.

¹ Celal Bayar University Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Manisa, Turkey.

Geliş Tarihi (Received): 16.02.2014 • Kabul Ediliş Tarihi (Accepted): 18.03.2014

ÖZET

Tüberküloz (TB) olgularını hızlı ve doğru saptamak TB kontrolü için küresel bir önceliktir. Nükleik asit amplifikasyon testleri, kısa sürede sonuç vermeleri nedeniyle tüberkülozun hızlı tanısında giderek daha yaygın olarak kullanılmaktadır. Doğrudan klinik örnekten *Mycobacterium tuberculosis*'i ve rifampisin direncini saptamaya yönelik Xpert MTB/RIF® testi (Cepheid, ABD) gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (Rt-PCR) temeline dayanan ticari bir sistemdir. Bu çalışmada orta düzey TB prevalansına sahip bir bölge olan Türkiye'de Xpert MTB/RIF testinin rutin laboratuvar kullanımında akciğer ve akciğer dışı klinik örneklerden *M.tuberculosis* saptanmasındaki performansı araştırılmıştır. Çalışmaya 1611'i akciğer, 1028'i akciğer dışı olmak üzere toplam 2639 klinik örnek alınmıştır. Xpert MTB/RIF test sonuçları, kültür sonuçları [BACTEC MGIT 960 (Becton Dickinson, ABD) ve Löwenstein-Jensen besiyeri] ile karşılaştırılarak değerlendirilmiştir. Kültürde üreyen basillerin rifampisin duyarlılığı BACTEC MGIT 960 yöntemi ile değerlendirilmiştir. İncelenen tüm örnekler için Xpert MTB/RIF testinin duyarlılığı %73.9, özgüllüğü %98.6, pozitif prediktif değeri %79.6, negatif prediktif değeri ise %98.1 olarak bulunmuştur. Akciğer örnekleri için bu değerler sırasıyla %80.8, %98.8, %84.9, %98.4; akciğer dışı örnekler için ise %58.2, %98.4, %66.7, %97.7 olarak belirlenmiştir. Tüm örnekler içinde mikroskopik inceleme yayma/ARB pozitif olanlarda testin duyarlılık ve özgüllüğü sırasıyla %100, %58.1; yayma/ARB negatif örneklerde ise %39.7, %99.1 olarak bulunmuştur. Yayma/ARB pozitif akciğer örnekleri için duyarlılık %100 ve özgüllük %76.2; ARB pozitif akciğer dışı örnekler için sırasıyla %100 ve %20; ARB negatif akciğer örnekleri için %47.8 ve %99.1; ARB negatif akciğer dışı örnekler için sırasıyla %28.2 ve %99.2 olarak saptanmıştır. Mikroskopik incelemenin duyarlılık ve özgüllüğü sırasıyla tüm örnekler için %56.7 ve %98.7; akciğer örnekleri için %63.2 ve %98.6; akciğer dışı örnekler için ise %41.8 ve %99 olarak bulunmuştur. İncelenen tüm örnek-

lerden sadece iki örnekte Xpert MTB/RIF testi ile rifampisin direnci saptanmış, bu örneklerden birinde BACTEC MGIT 960 TB yöntemi ile rifampisin direnci saptanmamıştır. Xpert MTB/RIF testinin yayma/ARB pozitif örneklerde TB tanısında güvenilir bir yöntem olduğu; özellikle akciğer dışı örnekler olmak üzere az sayıda basil içeren yayma/ARB negatif örneklerde ise duyarlılığının daha düşük olduğu görülmüştür. Ancak testin hasta örneğinin geldiği gün sonuç verdiği ve mikroskopik tanıya göre duyarlılığının daha üstün olduğu göz önüne alındığında tüberkülozun hızlı tanısında yararlı bir yöntem olduğu kanısına varılmıştır.

Anahtar sözcükler: Xpert MTB/RIF®; *Mycobacterium tuberculosis*; tüberküloz; tanı; rifampisin direnci.

ABSTRACT

Early and accurate detection of tuberculosis (TB) is a global priority for TB control. In order to obtain results in a short period of time, nucleic acid amplification tests are increasingly used worldwide for the rapid diagnosis of tuberculosis. The Xpert MTB/RIF® (Cepheid, USA) is a commercially available, real-time PCR-based assay, which can detect both TB and resistance to rifampicin directly in clinical samples. The aim of this study was to evaluate the performance of Xpert MTB/RIF assay for *M. tuberculosis* detection in pulmonary and extrapulmonary clinical samples in routine laboratory practice in Turkey, an intermediate-prevalence setting. A total of 2639 clinical specimens, 1611 of which were pulmonary and 1028 were extrapulmonary, were included in the study. The results of Xpert MTB/RIF assay were evaluated by comparing the results with those obtained by culture [BACTEC MGIT 960 (Becton Dickinson, USA) and Löwenstein Jensen medium]. Overall sensitivity, specificity, positive and negative predictive values of Xpert MTB/RIF assay were determined as 73.9%, 98.6%, 79.6% and 98.1%, respectively. These values were calculated as 80.8%, 98.8%, 84.9% and 98.4% for pulmonary specimens, and 58.2%, 98.4%, 66.7% and 97.7% for extrapulmonary specimens. The sensitivity and specificity were 100% and 58.1%, respectively, for acid-fast bacilli (AFB) smear-positive specimens, 39.7% and 99.1%, respectively for smear-negative specimens. The sensitivity and specificity were 100% and 76.2% for smear-positive pulmonary specimens; 100% and 20% for smear-positive extrapulmonary specimens; 47.8% and 99.1% for smear-negative pulmonary specimens; and 28.2% and 99.2% for smear-negative extrapulmonary specimens, respectively. The sensitivity and specificity of microscopic examination were found to be 56.7% and 98.7% for all specimens; 63.2% and 98.6% for pulmonary specimens; and 41.8% and 99% for extrapulmonary specimens, respectively. Rifampicin resistance was detected by Xpert MTB/RIF assay in only two specimens, however, rifampicin resistance was failed to be detected by BACTEC MGIT 960 TB method in one of these samples. Xpert MTB/RIF assay appeared to be a reliable method for the diagnosis of TB for AFB smear-positive samples, but less sensitive for smear-negative samples, particularly for extrapulmonary samples which include low numbers of bacilli. However, we concluded that the MTB/RIF is a useful assay for rapid diagnosis of tuberculosis, considering that the results can be given in the same day of sample collection and the assay is superior in sensitivity than microscopic examination.

Key words: Xpert MTB/RIF®; *Mycobacterium tuberculosis*; tuberculosis; diagnosis; rifampicin resistance.

GİRİŞ

Tüberküloz (TB) günümüzde halen küresel çapta bir sağlık sorunu olmaya devam etmektedir. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)'nün tahminlerine göre 2012 yılında 8.6 milyon kişide TB gelişmiş ve 1.3 milyon kişi TB nedeniyle ölmüştür. Çoğu önlenabilir olan bu ölümlerin sayısı kabul edilemeyecek kadar büyüktür. Aynı raporda 2012 yılında tahminen 450.000 milyon kişide çok ilaca dirençli tüberküloz (ÇİD-TB) geliştiği, bunların %25'inden azının saptanabildiği bildirilmiştir¹.

Tüberküloz ve ÇİD-TB'nin erken ve doğru tanısı hastalığın kontrolünde küresel bir önceliktir². Daha iyi tanısal testlere gereksinim duyulmasına rağmen, bugün hala birçok laboratuvar da geleneksel yöntemler kullanılmaktadır^{3,4}. Tüberkülozun tanısında mikroskopik inceleme kolay, ucuz ve hızlı bir yöntem olmakla birlikte, duyarlılığının düşük olması en önemli dezavantajdır. Kültür yöntemlerinde ise sonuçların alınması uzun sürmekte ve bunlar ileri biyogüvenlik önlemleri gerektirmektedir. Geleneksel yöntemlerin dezavantajları, tanı konmamış veya geç tanı konmuş TB ve ÇİD-TB olguları ile sonuçlanabilmekte, bunun sonucunda da hastalığın ve direncin yayılmasına, dolayısıyla hastalığın kontrolünün zorlaşmasına ve sağlık maliyetinin artmasına yol açabilmektedir^{5,6}. Son yıllarda TB tanısında yeni testlerin geliştirilmesi için çabalar artmış ve doğrudan hasta örneğinden etkenin saptanmasına yönelik nükleik asit amplifikasyon testleri önem kazanmıştır. Ancak bu testlerin duyarlılığı büyük ölçüde örnek türü, örneğin işlenmesi, uygulanan DNA ekstraksiyonu yöntemi ve inhibitörlerin varlığına bağlı olarak değişmektedir. Bu nedenle, TB tanısı için basit, hızlı ve etkin bir yöntem arayışı devam etmektedir^{6,7}.

Xpert MTB/RIF testi (Cepheid, Sunnyvale, ABD) doğrudan hasta örneğinden *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) ve rifampisin (RIF) direncini kolay ve hızlı saptamaya yönelik en son geliştirilen nükleik asit amplifikasyon testlerinden biridir ve kullanımı hızla yaygınlaşmıştır¹. Bu test, MTB'ye özgül rpoB geninin RRDR (Rifampin Resistance Determining Region) bölgesini hedef alan ve gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (Rt-PCR) temeline dayanan otomatize bir yöntemdir. Testte RRDR bölgesine komplementer beş prob kullanılarak MTB ve eşzamanlı olarak bu bölgedeki RIF direnci ile ilişkili mutasyonlar iki saat içinde saptanabilmektedir. Testte tüberküloz dışı mikobakteri (TDM) türlerinin çapraz amplifikasyonunu en aza indirmek ve mutasyon saptama duyarlılığını artırmak amacıyla "heminested PCR" işlemi kullanılmaktadır. Ayrıca test, bakteriyel lizis, nükleik asit ekstraksiyonu, amplifikasyon ve amplikon saptama basamakları dahil olmak üzere hemen hemen tam otomatik bir şekilde çalışmakta ve çok az biyogüvenlik önlemi gerektirmektedir^{5,6}.

Yeni TB tanı teknolojilerinin kullanıma girmesi için, hem küresel hem de ülke düzeyinde dinamik ve süregen bir politika oluşturulmalıdır⁸. Xpert MTB/RIF testinin tanısal performansı çeşitli çalışmalarda araştırılmış ve değişken sonuçlar alınmıştır⁶. Ülkemizde bu konuda yapılmış az sayıda çalışma mevcuttur^{9,10}. Bu araştırmanın amacı, orta seviye TB insidansına sahip ülkemizde, Xpert MTB/RIF testinin akciğer ve akciğer dışı klinik örneklerde *M.tuberculosis* saptanmasındaki performansını değerlendirmektir. Çalışmamızın sonucunda rutin uygulamada testin performansına ilişkin verilerin elde edilmesi ve paylaşılması, testin kullanımı ile ilgili bir politika oluşturma ve algoritma belirleme açısından önemli bilgiler kazandıracaktır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Klinik Örnekler

Çalışma, Kasım 2009-Ekim 2013 tarihleri arasında Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Tüberküloz Laboratuvarına gönderilen 6627 örnekten, hem kültür yöntemi hem de Xpert MTB/RIF testi ile *M.tuberculosis* aranan 2639 klinik örnek üzerinde yapıldı. Kültürü konta-

mine olan veya TDM üreyen örnekler çalışma dışında tutuldu. Çalışmaya alınan örneklerden 1611'i akciğer [721 balgam, 757 bronkoalveoler lavaj (BAL) ve bronşiyal aspirat (BA), 94 açlık mide sıvısı (AMS), 30 endotrakeal aspirat (ETA), 9 transtrakeal aspirat (TTA)], 1028'i ise akciğer dışı [341 idrar, 232 plevral sıvı, 176 doku, 111 beyin omurilik sıvısı (BOS), 94 apse, 42 peritoneal sıvı, 18 perikardial sıvı, 7 eklem sıvısı, 7 diğer] örneklerdi.

Örneklerin İşlenmesi ve Kültür

Akciğer örnekleri ve diğer kontamine kabul edilen örnekler standart N-asetil-L-sistein + sodyum hidroksit (NALC-NaOH) yöntemi ile işlendi. Normalde steril kabul edilen örnekler dekontamine edilmeden santrifüj edildikten sonra veya örnek 10 ml'den az ise doğrudan kullanıldı. Doku örnekleri ise steril koşullarda parçalara ayırdıktan sonra 2 ml steril serum fizyolojik ve cam boncuk içeren santrifüj tüplerine alınarak vorteksleme yolu ile homojenize edildi. Tüm işlenen örnekler mikroskopik inceleme, kültür ve Xpert MTB/RIF testi için çalışmaya alındı.

Mikroskopik incelemede Ehrlich Ziehl-Neelsen (EZN) boyama yöntemi kullanıldı. Kültür için işlenmiş örnekten, katı besiyeri olarak Löwenstein Jensen (LJ) besiyerine 0.2 ml (Salubris, Türkiye) ve sıvı besiyeri olarak da MGIT tüpe (Mycobacteria Growth Indicator Tube) 0.5 ml ekim yapıldı. LJ besiyerleri 8 hafta inkübe edildi, MGIT tüpleri ise BACTEC MGIT 960TB sistemi (Becton Dickinson, ABD) ile üretici firmanın önerileri doğrultusunda 6 hafta izlendi. Katı veya sıvı besiyerinin herhangi birinde üreme olması durumunda, *M.tuberculosis* tanımlanması için MPT64 antijen testi (BD MGIT TBc Identification Test, Becton Dickinson, ABD) kullanıldı ve gereğinde GenoType Mycobacterium CM (Hain Lifescience GmbH, Almanya) testi ile doğrulandı. *M.tuberculosis* izolatlarının ilaç duyarlılığı BACTEC MGIT 960TB sistemi ile değerlendirildi.

Xpert MTB/RIF Testi

Xpert MTB/RIF testi üreticinin önerilerine göre çalışıldı. Özetle, steril bir tüpe aktarılan 0.5 ml dekontamine örneğe 3/1 oranında (1.5 ml) örnek reaktifi (SR) ilave edildi. Dekontaminasyon işlemi uygulanmayan örnekler ise 2/1 oranında SR eklendi. Tüp kapağı kapatıldıktan sonra 5 dakikada bir elle çalkalanarak 15 dakika oda sıcaklığında bekletildi. Karışımdan 2 ml Xpert MTB/RIF test kartuşuna aktarıldı ve kartuşlar GeneXpert cihazı içine yerleştirildi. Tam otomatize sistemden sonuçlar 90 dakika sonra alınarak değerlendirildi.

İstatistiksel Analiz

Xpert MTB/RIF testinin performansının değerlendirilmesinde duyarlılık, özgüllük, pozitif ve negatif prediktif değerler kullanıldı. Bu değerler Xpert MTB/RIF testi sonuçlarının altın standart yöntem olan kültür sonuçları ile karşılaştırılmasıyla hesaplandı. Tüm analizler SPSS version 15.0 (SPSS Inc, ABD) kullanılarak gerçekleştirildi.

BULGULAR

Araştırmada toplam olarak 2639 klinik örnek [1611 (%61) akciğer, 1028 (%39) akciğer dışı] geriye dönük olarak değerlendirilmiştir. Örneklerin 180 (%6.8)'inde kültürde *M.tuberculosis* üremiş, 167 (%6.3)'si ise Xpert MTB/RIF testi ile pozitif bulunmuştur. Xpert

MTB/RIF testi pozitif olan 167 örneğin 133 (%79.6)'ü kültürde pozitif, 34 (%20.4)'ü ise negatif olarak saptanmıştır (Tablo I).

İncelenen tüm örnekler için Xpert MTB/RIF testinin duyarlılığı %73.9, özgüllüğü %98.6, pozitif prediktif değeri (PPD) %79.6, negatif prediktif değeri (NPD) ise %98.1 olarak hesaplanmıştır. Akciğer örnekleri için bu değerler sırasıyla %80.8, %98.8, %84.9 ve %98.4 olarak belirlenmiştir. Akciğer dışı örnekler için ise testin duyarlılığı %58.2, özgüllüğü %98.4, PPD %66.7 ve NPD %97.7 olarak bulunmuştur (Tablo I).

Tablo I. Xpert MTB/RIF Testi Sonuçlarının Kültür Sonuçları ile Karşılaştırılması

	Pozitif MTBC kültür (n)		Negatif MTBC kültür (n)		Toplam örnek	Duyarlılık (%)	Özgüllük (%)
	GX+ (DP)	GX- (YN)	GX+ (YP)	GX- (DN)			
Tüm Örnekler	133	47	34	2425	2639	73.9	98.2
Yayma/ARB pozitif örnekler	102	0	13	18	133	100	58
Yayma/ARB negatif örnekler	31	47	21	2407	2454	39.7	99.1
Akciğer örnekleri	101	24	18	1468	1611	80.8	98.8
Balgam	50	8	9	654	721	86.2	98.6
BAL/BA	45	12	9	691	757	79	98.7
AMS	3	2	0	89	94	60	100
ETA/TTA	3	2	0	34	39	60	100
Akciğer dışı örnekler	32	23	16	957	1028	58.2	98.4
İdrar	9	3	0	329	341	75	100
Doku	7	10	5	154	176	41.2	96.9
BOS	1	2	1	107	111	33.3	99.1
Apse	13	3	10	68	94	81.3	87.2
Steril vücut sıvıları	2	5	0	292	299	28.6	100
Plevral sıvı	2	3	0	227	232	40	100
Peritoneal sıvı	0	2	0	40	42	0	100
Perikardiyal sıvı	0	0	0	18	18	-	100
Eklem sıvısı	0	0	0	7	7	-	100
Diğer	0	0	0	7	7	-	100

MTBC: *M. tuberculosis* kompleks; GX: Xpert MTB/RIF testi; ARB: Aside dirençli basil; BA: Bronşiyal aspirat; BAL: Bronkoalveoler lavaj sıvısı; AMS: Açlık mide sıvısı; ETA: Endotrakeal aspirat; TTA: Transtrakeal aspirat; BOS: Beyin omurilik sıvısı; DP: Doğru pozitif; DN: Doğru negatif; YP: Yanlış pozitif; YN: Yanlış negatif.

Çalışmaya alınan 2639 klinik örneğin EZN boyama ile mikroskopik incelemesinde 133 (%5) örnekte ARB (aside dirençli basil) görülmüştür. Mikroskopik inceleme sonuçları ile birlikte değerlendirildiğinde Xpert MTB/RIF testinin duyarlılık, özgüllük, PPD ve NPD değerleri yayma/ARB pozitiflerde sırasıyla %100, %58.1, %88.7 ve %100, yayma/ARB negatiflerde ise %39.7, %99.1, %59.6 ve %98.1 olarak bulunmuştur (Tablo I). Akciğer ve akciğer dışı örnekler için yayma/ARB pozitiflik durumuna göre bu değerler ayrı ayrı değerlendirildiğinde, yayma/ARB pozitif akciğer örnekleri için duyarlılık %100 ve özgüllük %76.2; ARB pozitif akciğer dışı örnekler için sırasıyla %100, %20; ARB negatif akciğer örnekleri için %47.8, %99.1; ARB negatif akciğer dışı örnekler için sırasıyla %28.2 ve %99.2 olarak saptanmıştır.

Tüm örnekler için toplam 81 (%3.1) çelişkili sonuç elde edilmiştir. Bu sonuçların 34 (%1.3)'ünde Xpert MTB/RIF testi pozitif, kültür negatif olarak saptanmıştır. Yalancı pozitif olarak değerlendirilen örneklerin 18'inin akciğer (8 balgam, 10 BAL/BA), 16'sının akciğer dışı (10 apse, 5 doku, 1 BOS) örnek olduğu gözlenmiştir. Elde edilen çelişkili sonuçların 47 (%1.8)'inde ise Xpert MTB/RIF testi negatif, kültür ise pozitif olarak saptanmıştır. Yalancı negatif sonuç elde edilen 47 örneğin, 24'ünün akciğer (8 balgam, 12 BAL/BA, 2 AMS, 2 ETA), 23'ünün ise akciğer dışı (10 doku, 3 apse, 3 idrar, 3 plevral sıvı, 2 peritoneal sıvı, 2 BOS) örneklerden oluştuğu görülmüştür.

İncelenen tüm örneklerden sadece birinde, hem BACTEC MGIT 960 TB, hem de Xpert MTB/RIF yöntemi ile RIF direnci saptanmış, bir örnekte ise Xpert MTB/RIF testi ile RIF direnci belirlenmesine rağmen BACTEC MGIT 960 TB yöntemi ile RIF direnci saptanmamıştır.

Hızlı tanı aracı olarak mikroskopik inceleme yöntemi kültür ile karşılaştırıldığında, tüm örnekler için mikroskopik incelemenin duyarlılığı %56.7 ve özgüllüğü %98.7; akciğer örnekleri için sırasıyla %63.2 ve %98.6; akciğer dışı örnekleri için ise %41.8 ve %99 olarak bulunmuştur.

TARTIŞMA

Tüberkülozun hızlı tanısında Xpert MTB/RIF testi, önemli bir ilerlemeyi temsil etmektedir. Ancak ulusal sağlık sistemi içinde, testin TB kuşkulu olgularda kullanımını belirleyen optimal bir algoritma henüz belirlenmemiştir¹¹. Xpert MTB/RIF testinin belli durumlarda kullanılmasına DSÖ onay vermiş olmasına rağmen, test kullanım politikasının ve algoritmasının ülke koşullarına göre belirlenmesi gereklidir^{3,12,13}. Türkiye, DSÖ 2013 yılı raporuna göre 23/100.000 oranı ile orta düzey TB prevalansına sahiptir¹. Türkiye'den Xpert MTB/RIF testinin güvenilirliğini değerlendiren ve az sayıda klinik örneğin çalışmaya alındığı birkaç çalışma bulunmaktadır^{9,10}. Çalışmamızda çok sayıda klinik örnek değerlendirildiğinden, elde edilen sonuçların ülkemiz koşullarında test performansının belirlenmesine yol gösterici olacağı düşünülmüştür.

Çalışmamızda tüm örnekler için Xpert MTB/RIF testinin duyarlılığı %73.9, özgüllüğü %98.6 bulunmuştur. Zeka ve arkadaşları⁹ tarafından ülkemizde yapılan bir çalışmada, bizim çalışmamızın sonuçlarına benzer şekilde akciğer ve akciğer dışı örneklerde Xpert

MTB/RIF testinin duyarlılığı %79.7, özgüllüğü %98.2 olarak saptanmıştır. Yine ülkemizden Ciftci ve arkadaşları¹⁰, testin duyarlılığını %96, özgüllüğünü %98 olarak bildirmişlerdir¹⁰. Ciftci ve arkadaşlarının¹⁰ çalışmasında, örneklerin çoğunun (%88) akciğer örneği olması, kültür pozitif (%29) ve yayma/ARB pozitif (%13) örnek oranının yüksek olması, adı geçen testin duyarlılığının daha yüksek olmasının nedenleri olabilir. Dünyanın değişik bölgelerinde yapılmış birçok araştırmada, Xpert MTB/RIF testinin tanısal performansı araştırılmış ve çok değişken sonuçlar alınmıştır¹⁴⁻¹⁶. Bu çalışmalarda testin duyarlılığı %58-100, özgüllüğü %86-100 arasında değişmektedir. Bu değişkenlik çalışmaya alınan örnek sayısı, çalışılan popülasyondaki TB insidansı, örnek tiplerinin dağılımındaki farklılık ve örneklerin basil yükündeki farklılığa bağlı ortaya çıkabilir^{6,12}. Çalışmamızda örneklerin %95'inin yayma/ARB negatif örneklerden oluşması duyarlılığın kısmen daha düşük saptanmasına neden olmuş olabilir.

Bu çalışmada tüm örneklerin %61'ini akciğer örnekleri oluşturmaktadır. Akciğer örnekleri için Xpert MTB/RIF testinin duyarlılığı %80.8, özgüllüğü ise %98.8 olarak saptanmıştır. Chang ve arkadaşlarının⁶ bir meta-analizde değerlendirdiği 15 çalışmada, akciğer TB tanısında Xpert MTB/RIF testinin duyarlılığı %73-100, özgüllüğü ise %92-100 arasında bildirilmiştir. Bu araştırmacılar, analiz sonucunda toplam duyarlılığı %90.4 (%95 CI %89.2-91.4), özgüllüğü ise %98.4 (%95 CI %98.0-98.7) olarak hesaplamışlardır⁶. Bu değişken sonuçlarda da yine en önemli neden, çalışılan örnek çeşitliliği olabilir. Çalışmamızda 1611 akciğer örneğinin 721'i balgam, 757'si BAL/BA, 94'ü AMS ve 39'u ETA/TTA örneğidir. Örnek tipine göre bakıldığında, test duyarlılığı balgamda %86.2, BAL/BA'da %79 bulunurken, AMS ve ETA/TTA'da %60 olarak saptanmıştır. Daha önceki çalışmalarda da balgam örneklerinde yüksek duyarlılık bildirilmiştir^{14,17,18}. Lee ve arkadaşlarının¹⁹ çalışmasında, 132 BAL/BA örneğinde testin duyarlılığı, çalışmamıza benzer şekilde %81.6 olarak saptanmış ve balgam çıkaramayan hastalarda BAL veya BA örneğinden akciğer TB tanısında testin uygun bir araç olduğu belirtilmiştir. Çok sayıda örnek üzerinde yapılmış bazı çalışmalarda da, AMS örneklerinde diğer akciğer örneklerine göre duyarlılığın biraz daha düşük olduğu bildirilmiştir^{20,21}. Bu durumun, AMS örneklerinde basil yükünün daha az olmasından kaynaklanabileceği düşünülmüştür.

Çalışmada akciğer dışı örnekler, tüm örneklerin %39'unu oluşturmaktadır. Akciğer dışı örnekler için Xpert MTB/RIF testinin duyarlılığı %58.2, özgüllüğü ise %98.4 olarak bulunmuştur. Chang ve arkadaşlarının⁶ meta-analizindeki yedi çalışmada, akciğer dışı TB tanısında Xpert MTB/RIF testinin duyarlılığı %25-95, özgüllüğü ise %73-100 arasında bildirilmiştir. Meta-analiz sonucunda toplam duyarlılık %80.4 (%95 CI %75.0-85.1), özgüllük ise %86.1 (%95 CI %83.5-88.4) olarak hesaplanmıştır. Bizim çalışmamıza benzer şekilde çoğu çalışmada, Xpert MTB/RIF testinin akciğer dışı TB tanısındaki güvenilirliğinin akciğer TB'sine göre çok daha düşük olması, bu testin akciğer örnekleri için daha uygun olduğunu düşündürmüştür⁶. Ayrıca akciğer dışı örneklerin doğası gereği, örnek türleri arasında akciğer örneklerine göre daha büyük farklılık vardır. Bu nedenle çalışmaya alınan örnek tiplerinin oranlarındaki farklılıklar, elde edilen sonuçları da etkilemektedir. Çalışmamızda 1028 akciğer dışı örneğinin 341'i idrar, 176'sı doku, 111'i BOS, 94'ü apse, 299'u steril vücut sıvısı (232 plevral, 42 peritoneal, 18 perikardiyal, 7 eklem

sıvısı) ve yedisi diğer klinik örneklerdir. Çalışmamızda akciğer dışı örneklerin alt tiplerine göre testin duyarlılığı apsede %81.3, idrarda %75, dokuda %41.2, BOS'da %33.3, steril vücut sıvılarında ise %28.6 olarak hesaplanmıştır. Moure ve arkadaşları²² çalışmalarında, akciğer örneklerinin alt tipleri için bizim çalışmamıza çok benzer duyarlılık sonuçları bildirmişlerdir. Apse ve idrarda duyarlılık akciğer örneklerine yakın bulunurken, doku, BOS ve steril vücut sıvılarında düşük bulunmuştur. Doku örneklerinde duyarlılığın düşük olması, örnek homojenizasyonunun iyi olmamasına, steril vücut sıvıları ve BOS örnekleri için ise bu örneklerde basil yükünün az olmasına bağlı olabilir. Steril vücut sıvıları ve BOS örneklerinin yeterli miktarda alınması ve konsantrasyon işleminden sonra test edilmesi duyarlılığın artmasını sağlayabilir^{12,23}. Moure ve arkadaşları²² doku, BOS ve steril vücut sıvılarında mikroskopik incelemenin duyarlılığının da düşük olacağını, bu nedenle klinik kuşkusu yüksek hastalarda, bu örneklerden akciğer dışı TB'nin hızlı tanısında duyarlılığı düşük olsa bile Xpert MTB/RIF testinin yararlı bir araç olabileceğini belirtmişlerdir. DSÖ de özellikle hızlı tanının daha önemli olduğu TB menenjit kuşkusu gibi durumlarda bu testin kullanılmasını önermiştir¹².

Xpert MTB/RIF testini değerlendiren çalışmalardan elde edilen sonuçlardaki değişkenliğin en önemli nedenlerinden bir de çalışmaya alınan örneklerin yayma pozitiflik durumlarıdır¹². Çalışmamızda 2639 örneğin 133 (%5)'ü yayma/ARB pozitif örneklerdir. Yayma pozitif örneklerde Xpert MTB/RIF testinin duyarlılığı %100, özgüllüğü %58.1 bulunurken, yayma negatif örneklerde duyarlılık ve özgüllük sırasıyla %39.7 ve %99.1 olarak bulunmuştur. Xpert MTB/RIF testinin duyarlılığı klinik örnekteki basil yüküne bağlı olup, *M.tuberculosis* saptama sınırının 131 cfu/ml olduğu bildirilmiştir¹⁸. Örnekteki basil yükünün az olduğunun bir göstergesi olan yayma preparatta ARB negatifliği, test duyarlılığını olumsuz etkilemektedir. Ayrıca çalışmamızda yayma/ARB negatif örneklerde duyarlılığın düşük bulunması, sıvı ve katı olmak üzere iki farklı kültür yönteminin eş zamanlı kullanılması ile kültür duyarlılığının artmış olmasına bağlı olabilir.

Çalışmamızda, yalancı pozitif sonuç elde edilen 34 (%1.3) örneğin 18'inin akciğer (8 balgam, 10 BAL/BA), 16'sının ise akciğer dışı (10 apse, 5 doku, 1 BOS) örnek olduğu görülmüştür. Yanlış pozitiflik elde edilen örneklerin ait olduğu hastalar araştırıldığında, bunlardan 20'sinin daha önceki örneklerinde kültürde üreme olduğu, klinik veya histopatolojik olarak TB tanısı aldığı ve bu nedenle antitüberküloz tedavi aldıkları anlaşılmıştır. Bu 20 örneği doğru pozitif olarak değerlendirdiğimizde, Xpert MTB/RIF testinin özgüllüğü %98.6'dan %99.4'e yükselmiştir. Çalışmamızda, yalancı negatif sonuç elde edilen 47 örneğin, 24'ü akciğer (8 balgam, 12 BAL/BA, 2 AMS, 2 ETA), 23'ü ise akciğer dışı (10 doku, 3 apse, 3 idrar, 3 plevral sıvı, 2 peritoneal sıvı, 2 BOS) örneklerdir. Bu örnekler ile elde edilen çelişkili sonuçlar değerlendirildiğinde, örneklerin basil yükü düşük olan yayma negatif örnekler olduğu görülmüş; özellikle doku örneklerinde olmak üzere sorunun, klinik örneğin homojenizasyonunun iyi yapılamamasından kaynaklanmış olabileceği düşünülmüştür.

Xpert MTB/RIF testinin, örnek kabul edildikten sonra bir gün içinde sonuç verdiği göz önüne alındığında, duyarlılığını aynı hızda sonuç veren mikroskopik inceleme ile karşılaştırmak gerekebilir. Çalışmamızda direkt mikroskopik incelemenin duyarlılığı tüm örnekler

için %56.7 olarak bulunmuştur. Xpert MTB/RIF testi kullanıldığında TB tanısının duyarlılığı %56.7'den %73.9'a yükselmiştir. Özetle, kültür pozitif 180 örneğin 78'inde yayma/ARB negatif saptanmış, bu 78 örneğin 31 (%40)'ini Xpert MTB/RIF testi yakalamıştır.

M.tuberculosis'de RIF direnci ÇİD-TB'nin bir belirtici olabilir. Doğrudan klinik örnekten RIF direnci ile ilişkili mutasyonları saptayabilmesi, Xpert MTB/RIF testinin önemli bir avantajıdır²⁴. Bu çalışmada, Xpert MTB/RIF testi ile sadece iki örnekte RIF direnci saptanmıştır. Bunlardan biri kültüre dayalı yöntemle doğrulanırken, diğeri fenotipik olarak RIF'a karşı duyarlı bulunmuştur. Xpert MTB/RIF testinin performansını değerlendiren daha önceki çalışmalarda da, RIF'a dirençli olanların oranı düşük olduğundan testin RIF direncini saptamadaki performansını değerlendirmek için veriler kısıtlıdır¹². Chang ve arkadaşlarının⁶ meta-analizinde, değerlendirilen yedi çalışmada testin RIF direncini saptamadaki duyarlılığı %17-98, özgüllüğü ise %72-100 arasında bildirilmiştir. Meta-analiz sonucunda toplam duyarlılık %94.1 (%95 CI %91.6-96), özgüllük ise %97 (%95 CI %96-97.7) olarak saptanmıştır. RIF'a dirençli MTB izolatlarının yaklaşık %5'inde, mutasyon *rpoB* gen bölgesi dışında görülebilmektedir. Bu durum testin yalancı duyarlı sonuçlarının nedeni olabilir⁶. Williamson ve arkadaşlarının¹⁴ çalışmasında, bizim çalışmamızın sonuçlarına benzer oranda, Xpert MTB/RIF testi ile saptanan 13 RIF direncinin altısı fenotipik olarak duyarlı bulunmuş, daha sonra yapılan DNA dizi analizlerinde bu izolatların birinde fenotipik dirence neden olmayan sessiz mutasyon olduğu, ikisinde düşük düzey dirençle ilişkili mutasyon olduğu, diğer üçünde ise *rpoB* gen bölgesinde mutasyon olmadığı görülmüştür¹⁴. Bizim çalışmamızda yanlış direnç elde edilen izolatın dizi analizi yapılmamış, ancak kültürde elde edilen izolattan Xpert MTB/RIF testi tekrarlandığında RIF'a duyarlı sonuç elde edilmiştir. Bu sonuç, örnekten elde edilen RIF direncinin hatalı olduğunu düşündürmüştür.

Sonuç olarak, Xpert MTB/RIF testinin yayma/ARB pozitif örneklerde TB tanısında güvenilir bir yöntem olduğu; özellikle akciğer dışı örnekler olmak üzere az sayıda basil içeren yayma/ARB negatif örneklerde ise duyarlılığının daha düşük olduğu belirlenmiştir. Ancak testin hasta örneğinin geldiği gün sonuç verebildiği ve mikroskopik taniya göre duyarlılığının daha üstün olduğu göz önüne alındığında tüberkülozun hızlı tanısında yararlı bir yöntem olduğu kanısına varılmıştır.

KAYNAKLAR

1. World Health Organization. Global Tuberculosis Report 2013. WHO, Geneva. Available at: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/91355/1/9789241564656_eng.pdf?ua=1
2. 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. 2011, Geneva. Available at: http://whqlibdoc.who.int/publications/2011/9789241501545_eng.pdf?ua=1
3. Pai M, Palamounit KM. New tuberculosis technologies: challenges for retooling and scale-up. Int J Tuberc Lung Dis 2012; 16(10): 1281-90.
4. Wilson ML. Recent advances in the laboratory detection of *Mycobacterium tuberculosis* complex and drug resistance. Clin Infect Dis 2011; 52(11): 1350-5.
5. Van Rie A, Page-Shipp L, Scott L, Sanne I, Stevens W. Xpert(®) MTB/RIF for point-of-care diagnosis of TB in high-HIV burden, resource-limited countries: hype or hope? Expert Rev Mol Diagn 2010; 10(7): 937-46.

6. 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.
7. Pai M, Minion J, Steingart K, Ramsay A. New and improved tuberculosis diagnostics: evidence, policy, practice, and impact. *Curr Opin Pulm Med* 2010; 16(3): 271-84.
8. WHO. Framework for implementing new tuberculosis diagnostics. World Health Organization, 2011, Geneva, Switzerland.
9. 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.
10. Ciftci IH, Aslan MH, Asik G. Evaluation of Xpert MTB/RIF results for the detection of *Mycobacterium tuberculosis* in clinical samples. *Mikrobiyol Bul* 2011; 45(1): 43-7.
11. Yoon C, Cattamanchi A. Utility of newer and novel tools for the diagnosis of tuberculosis. *South African Respiratory Journal* 2013; 18(3): 83-4.
12. WHO, Expert Group Meeting Report, 2013. The use of the XPERT MTB/RIF assay for the detection of pulmonary and extrapulmonary tuberculosis and rifampicin resistance in adults and children. World Health Organization, 2013, Geneva, Switzerland.
13. Cobelens F, van den Hof S, Pai M, Squire SB, Ramsay A, Kimerling ME; Evidence for Scale-up Group. Which new diagnostics for tuberculosis, and when? *J Infect Dis* 2012; 205 (Suppl 2): S191-8.
14. Williamson DA, Basu I, Bower J, Freeman JT, Henderson G, Roberts SA. An evaluation of the Xpert MTB/RIF assay and detection of false-positive rifampicin resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2012; 74(2): 207-9.
15. Lawn SD, Brooks SV, Kranzer K, et al. Screening for HIV-associated tuberculosis and rifampicin resistance before antiretroviral therapy using the Xpert MTB/RIF assay: a prospective study. *PLoS Med* 2011; 8(7): e1001067.
16. Kurbatova EV, Kaminski DA, Erokhin VV, et al. Performance of Cepheid® Xpert MTB/RIF® and TB-Biochip® MDR in two regions of Russia with a high prevalence of drug-resistant tuberculosis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2013; 32(6):735-43.
17. 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.
18. Helb D, Jones M, Story E, et al. Rapid detection of *Mycobacterium tuberculosis* and rifampin resistance by use of on-demand, near-patient technology. *J Clin Microbiol* 2010; 48(1): 229-37.
19. 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.
20. Tortoli E, Russo C, Piersimoni C, et al. Clinical validation of Xpert MTB/RIF for the diagnosis of extrapulmonary tuberculosis. *Eur Respir J* 2012; 40(2): 442-7.
21. Bates M, O'Grady J, Maeurer M, et al. Assessment of the Xpert MTB/RIF assay for diagnosis of tuberculosis with gastric lavage aspirates in children in sub-Saharan Africa: a prospective descriptive study. *Lancet Infect Dis* 2013; 13(1): 36-42.
22. Moure R, Martin R, Alcaide F. Effectiveness of an integrated real-time PCR method for detection of the *Mycobacterium tuberculosis* complex in smear-negative extrapulmonary samples in an area of low tuberculosis prevalence. *J Clin Microbiol* 2012; 50(2): 513-5.
23. Patel VB, Theron G, Lenders L, et al. Diagnostic accuracy of quantitative PCR (XPERT MTB/RIF) for tuberculous meningitis in a high burden setting: a prospective study. *PLoS Med* 2013; 10(10): e1001536.
24. Drobniewski F, Nikolayevskyy V, Balabanova Y, Bang D, Papaventsis D. Diagnosis of tuberculosis and drug resistance: what can new tools bring us? *Int J Tuberc Lung Dis* 2012; 16(7): 860-70.