

MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS KOMPLEKSİNİN VARLIĞININ SAPTANMASINDA VE RİFAMPİSİNE DİRENCİNİN BELİRLENMESİNDE XPERT MTB/RIF TESTİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Gonca ERKÖSE GENÇ, Özge YILMAZLI, Dilek ŞATANA, Zayre ERTURAN, Meltem UZUN

İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İSTANBUL

ÖZET

Tüberküloz hala tüm dünyada önemli bir sağlık sorunudur. *Mycobacterium tuberculosis*'in varlığının ve ilaç direncinin hızlı bir şekilde belirlenmesinde günümüzde moleküler yöntemler artan sıklıkta kullanılmaktadır. Bu çalışmada *M.tuberculosis* kompleksinin (MTBC) doğrudan klinik örnekten tanısında ve rifampisine (RIF) direncinin belirlenmesinde Xpert MTB/RIF testi değerlendirilmiş, sonuçlar referans yöntem olarak Löwenstein-Jensen (L-J) ve Bactec MGIT 960 sistemi ile karşılaştırılmıştır. Bu amaçla 1022'si solunum yolu ve 700'ü solunum yolu dışı olmak üzere toplam 1722 örnek incelenmiştir. İncelenen solunum yolu örneklerinin 119'u (% 11.6) hem kültür hem de Xpert MTB/RIF testi ile pozitif olarak bulunmuştur. Bu örneklerin 76'sının (% 7.4) preparatı aside dirençli bakteri (ARB) negatif, 43'ünün (% 4.2) pozitif sonuç vermiştir. Çalışmaya dahil edilen solunum yolu dışı örneklerinin ise 24'ünün (% 3.4) hem kültür, hem de Xpert MTB/RIF testi sonucu pozitifdir. Ehrlich Ziehl Neelsen (EZN) boyama yöntemiyle bu örneklerin 18'i (% 2.6) ARB negatif, altısı (% 0.9) pozitif bulunmuştur. Xpert MTB/RIF testinin solunum yolu örneklerinde duyarlılık, özgüllük, pozitif ve negatif prediktif değerleri sırasıyla % 97.5, % 99.8, % 98.3 ve % 99.7 olarak, solunum yolu dışı örneklerinde ise % 82.8, % 99.6, % 88.9 ve % 99.3 olarak belirlenmiştir. ARB pozitif solunum yolu örneklerinde duyarlılık % 100 iken, özgüllük değeri hesaplanamamıştır. ARB negatif solunum yolu örneklerinde ise duyarlılık ve özgüllük ise hesaplanamamıştır. ARB pozitif solunum yolu dışı örneklerde ise duyarlılık ve özgüllük % 78.3 ve % 99.6 olarak saptanmıştır. Tüm örnekler birlikte değerlendirildiğinde ARB pozitif örneklerde duyarlılık % 100 olarak belirlenmiş, özgüllük ise hesaplanamamıştır. ARB negatif örneklerde ise duyarlılık ve özgüllük % 92.2 ve % 99.7 olarak belirlenmiştir. Örneklerin toplam olarak 143'ünde (% 8.3) hem kültür, hem de Xpert MTB/RIF testi ile pozitif sonuç elde edilmiştir. Xpert MTB/RIF testi ile bu suşların 128'inin (% 89.5) RIF'e duyarlı, 15'inin (% 10.5) dirençli olduğu belirlenmiştir. Xpert MTB/RIF testi, MGIT 960 yöntemiyle yapılan ilaç duyarlılık testi (İDT) ile % 100 uyumlu sonuç vermiştir. Sonuç olarak, Xpert MTB/RIF testi hem solunum yolu, hem de solunum yolu dışı örneklerde MTBC varlığının belirlenmesinde duyarlılığı ve özgüllüğü yüksek, hızlı ve kolay uygulanabilir bir yöntem olarak belirlenmiştir. Ancak bu test ile RIF'e dirençli olduğu belirlenen *M. tuberculosis* suşlarının sonuçlarının konvansiyonel İDT ile tekrarlanmasının doğru olacağı düşünülmüştür.

Anahtar sözcükler: ilaç direnci, ilaç duyarlılık testi, mikobakteri, *Mycobacterium tuberculosis* kompleksi, rifampisin, Xpert MTB/RIF

SUMMARY

Evaluation of Xpert MTB/RIF Assay for Direct Detection of *Mycobacterium tuberculosis* Complex and Rifampicin Resistance

Tuberculosis is still a major health problem all over the world. Nowadays molecular methods are increasingly being used for rapid detection of *M.tuberculosis* and the drug resistance. In this study, the Xpert MTB/RIF test was evaluated for direct detection of *M.tuberculosis* complex (MTBC) and rifampicin (RIF) resistance, and the results were compared with Löwenstein-Jensen (L-J) and Bactec MGIT 960 system as reference methods. For this purpose, totally 1722 specimens were examined, including 1022 respiratory and 700 non-respiratory. Among respiratory specimens, 119 (11.6%) were positive both by culture and by the Xpert MTB/RIF test. Of these specimens, 76 (7.4%) smears were acid fast bacilli (AFB) negative and 43 (4.2%) were positive. Of the non-respiratory specimens included in the study, 24 (3.4%) were positive both by culture and the Xpert MTB/RIF test. The smear of 18 of these specimens (2.6%) were AFB negative while six (0.9%) were positive. The sensitivity, specificity, positive and negative predictive values of the Xpert MTB/RIF test in respiratory specimens were 97.5%, 99.8%, 98.3% and 99.7%, respectively, and in non-respiratory specimens were 82.8%, 99.6%, 88.9% and 99.3%. Sensitivity was detected as 100% in AFB positive respiratory specimens, but specificity could not be calculated. Sensitivity and specificity were calculated as 96.2% and 99.8% in AFB negative respiratory specimens. Sensitivity was determined as 100% for AFB positive non-respiratory specimens while specificity could not be calculated. Sensitivity and specificity were determined as 78.3% and 99.6% for AFB negative non-respiratory specimens. When all specimens were evaluated together, the sensitivity was determined as 100% for AFB positive ones and the specificity could not be calculated. Sensitivity and specificity were 92.2% and 99.7% for AFB negative specimens. Totally 143 specimens (8.3%) were positive both by culture and the Xpert MTB/RIF test. It was determined that 128 (89.5%) of these strains were sensitive and 15 (10.5%) were resistant to RIF by the Xpert MTB/RIF test. The Xpert MTB/RIF test was 100% compatible with the MGIT 960 drug sensitivity test (DST). In conclusion, the Xpert MTB/RIF test has been identified as a rapid, easily applicable method with high sensitivity and specificity for direct detection of MTBC in both respiratory and non-respiratory specimens. However, it was concluded that it would be right to confirm RIF resistant *M.tuberculosis* strains by conventional DST.

Keywords: drug resistance, drug susceptibility testing, rifampicin, mycobacteria, *Mycobacterium tuberculosis* complex, Xpert MTB/RIF

İletişim adresi: Gonca Erköse Genç, İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İSTANBUL

Tel: (0212) 414 20 00/32376

e-posta: goncaerkose@yahoo.com

Alındığı tarih: 23.07.2017, Yayına kabul: 15.08.2017

GİRİŞ

Tüberküloz (TB) hala tüm dünyada önemli bir sağlık sorundur. Dünya Sağlık Örgütü'nün (DSÖ) raporuna göre 2015 yılında dünya genelinde TB nedeniyle 1.8 milyon insan ölmüş ve yaklaşık 10.4 milyon yeni olgu ortaya çıkmıştır. Yeni olguların % 15'ini HIV ile infekte kişiler oluşturmaktadır. 2000-2015 yılları arasında bu enfeksiyon nedeniyle ölümler % 22 azalsa da, TB hala tüm dünyada en fazla ölüme neden olan 10 enfeksiyondan biridir ve 2015 yılında HIV/AIDS'ten daha fazla insan bu nedenle hayatını kaybetmiştir⁽²⁴⁾.

Türkiye Halk Sağlığı Kurumu'nun verilerine göre 2015 yılında Türkiye'de 12,772 TB olgusu belirlenmiştir. Bunların % 92.4'ü yeni, % 7.6'sı önceden tedavi görmüş olgulardır. Bu olguların % 64.4'ü akciğer TB'ü, % 35.6'sı ise akciğer dışı TB'dur. Hastaların % 5'i 0-14 yaş arasında, % 95'i ise 15 yaşından büyüktür. HIV pozitif TB hastalarının sayısı 61 olup, tüm olguların % 0.5'ini oluşturmaktadır⁽¹¹⁾.

İlaç direnci, TB'un kontrol altına alınması için önemli bir engel oluşturmaktadır. 2015 yılında 480,000 çok ilaca dirençli (ÇİD) ve buna ek olarak 100,000 rifampisine dirençli (RIF-D) yeni olgu ortaya çıkmıştır. Dünya genelinde 2015 yılında yeni olguların yaklaşık % 3.9'u ve daha önce tedavi edilmiş olguların % 21'i ÇİD/RIF-D TB'dir. ÇİD/RIF-D TB nedeniyle 2015 yılında yaklaşık 250,000 ölüm gerçekleşmiştir. ÇİD suşları ile infekte kişilerin yaklaşık % 9.5'i yaygın ilaca dirençli (YİD) suşları ile infektir⁽²⁴⁾.

Türkiye'de 2015 yılında 12,772 TB hastasından sadece 5,629'undan (% 44.1) izole edilen suşa ilaç duyarlılık testi (İDT) yapılmıştır. Bu suşların 230'u (% 4.1) ÇİD olarak belirlenmiştir. Yeni olguların % 2.5'i, önce-

den tedavi görmüş olguların ise % 17.8'i ÇİD TB'dir⁽¹¹⁾.

Kültür, TB'un tanısında halen altın standarttır. Ancak sonuçların çıkması haftalar almakta, ayrıca donanımlı bir laboratuvara, eğitimli personele ve örnekte canlı bakteri bulunmasına ihtiyaç duyulmaktadır. Fenotipik İDT birincil ve ikincil antitüberküloz ilaçlara direncin belirlenmesi için geleneksel yöntemdir. Günümüzde otomatize sistemlerin kullanılmasıyla bu test için gereken süre kısalmıştır⁽¹⁷⁾.

M.tuberculosis'in varlığının ve ilaç direncinin hızlı bir şekilde belirlenmesinde moleküler yöntemler artan sıklıkta kullanılmaktadır. Bu yöntemlerin arasında Amplified *M.tuberculosis* Direct Test (Gen-Probe Inc. San Diego, CA, ABD), Probetec (BD, Sparks, MD, ABD) ve LAMP assay (Eiken Chemical Co. Ltd., Tokyo, Japonya) gibi nükleik asit amplifikasyon testleri; GenoType MTBDRplus (Hain Lifescience GmbH, Nehren, Almanya), INNO LIPA Rif. TB (Innogenetics, Ghent, Belçika) ve Hyplex TBC Test (BAG Healthcare, Lich, Almanya) gibi prob testleri, COBAS TaqMan MTB (Roche, Basel, İsviçre), Xpert MTB/RIF (Cepheid, Sunnyvale, CA, ABD) ve FluoroType MTB (Hain Lifescience GmbH, Nehren, Almanya) gibi real-time PCR sistemleri bulunmaktadır^(8,17).

TB'un hızlı tanısı için DSÖ Xpert MTB/RIF testini (Cepheid, Sunnyvale USA) önermektedir. İlk olarak 2010 yılında yetişkinlerde akciğer TB'unun tanısı için önerilmiştir. Çocuklarda ve ayrıca akciğer dışı TB'un tanısında da 2013 yılından itibaren önerilmektedir. Xpert MTB/RIF yayma pozitif ve yayma negatif balgam örneklerinde örneğin işlenmesi, DNA ekstraksiyonu, amplifikasyon, *M.tuberculosis* varlığı ve RIF'e direncin belirlenmesi aşamalarını birleştiren tam

otomatize bir testtir. rpoB geninde sıklıkla görülen mutasyonları belirlemektedir. Yüksek özgüllük için üç özel primer ve beş özgün prob kullanılmaktadır. Sonuç yaklaşık iki saatte alınmaktadır. Ancak mikroskopi ve kültür tedavi takibinde ve RIF dışındaki ilaçlara direncin belirlenmesinde gereklidir^(18,25).

Xpert MTB/RIF testinin kullanımı 2010 yılından itibaren çok artmıştır. Ülkelerin % 69'u bu testin dirençli suşlarla infekte olma riski taşıyan kişilerde, % 60'ı ise HIV-pozitif kişilerde öncelikli olarak tercih edilmesini önermektedir⁽²⁴⁾.

Bu çalışmada, *M.tuberculosis* kompleksinin (MTBC) doğrudan klinik örnekten tanısında ve RIF'e direncinin belirlenmesinde Xpert MTB/RIF testi, konvansiyonel yöntemler olan Löwenstein-Jensen (L-J) ve Bactec MGIT 960 sistemiyle karşılaştırılmış ve sonuçlar değerlendirilmiştir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Ekim 2010-Temmuz 2016 tarihleri arasında klinik olarak TB şüphesiyle veya TB enfeksiyonunu destekleyen bulgularla İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Tüberküloz Laboratuvarına rutin TB araştırılması için gönderilmiş hastalar çalışmaya dahil edilmiştir. Toplam 1729 örnek (1027 solunum yolu örneği: balgam, bronkoalveolar lavaj, transtrakeal aspirasyon, açlık mide suyu; 702 solunum yolu dışı örnek: abse, periton diyaliz sıvısı, plevra sıvısı, biyopsi, idrar, assit sıvısı, ejetkülat, beyin omurilik sıvısı (BOS)) incelenmiştir. Ancak, Xpert MTB/RIF testi ile yedi örnekle ilgili sonuç alınamadığından 1722 örnek üzerinden çalışmaya devam edilmiştir.

Örnekler N-asetil-L-sistein-sodyum hidroksit karışımı ile dekontamine edilmiş, fosfat tamponu ile nötralize edilmiş ve santirifüjde çevrilerek konsantre hale getirilmiştir⁽⁷⁾. Aside rezistan bakteri (ARB) aramak için hazırlanan preparatlar, Ehrlich-Ziehl-Neelsen (EZN) yöntemiyle boyanmıştır. Ardından Bactec MGIT 960 (BD, Sparks, MD, ABD) ve L-J (BD, Sparks, MD, ABD) besiyerlerine ekim yapılmıştır. Kalan dekontamine edilmiş örnek ise Xpert MTB/RIF testi için kullanılmıştır.

Ekim yapılmış besiyerleri 37°C'de 6-8 hafta inkübe edilmiştir. Pozitif Bactec MGIT 960 tüpleri veya L-J kültürlerinden EZN yöntemiyle boyanmak üzere preparat hazırlanmış ve ARB varlığı doğrulanmıştır. Pozitif olduğu belirlenen MGIT besiyerlerinden BD MGIT TBc (BD, Sparks, MD, ABD) testi ile tanımlama yapılmıştır. MTBC olduğu belirlenen suşlara MGIT 960 yöntemiyle (BD, Sparks, MD, ABD) İDT uygulanmıştır⁽²⁰⁾.

Xpert MTB/RIF testi (Cepheid, Sunnyvale, CA, ABD) üretici firmanın önerileri doğrultusunda çalışılmıştır. Dekontamine edilmiş örnekler sodyum hidroksit ve izopropil alkol içeren numune reaktifi ile 2:1 oranında karıştırılarak oda sıcaklığında 15 dakika bekletilmiştir. Ardından bu karışımdan 2 ml test kartuşuna yüklenmiş ve kartuş Gene Xpert cihazına (Cepheid, Sunnyvale, CA, ABD) yerleştirilmiştir. Test, 1 saat 55 dakikada sonuçlanmış ve veriler bir bilgisayar programı ile yorumlanmıştır.

BULGULAR

İncelenen 1022 solunum yolu örneğinin 119'u (% 11.6) hem kültür hem de Xpert MTB/RIF testi ile pozitif olarak bulunmuş-

tur. Bu örneklerin 76'sı (% 7.4) ARB negatif, 43'ü (% 4.2) ARB pozitifdir. Xpert MTB/RIF testi, ARB negatif ve kültür pozitif olan üç solunum yolu örneğinde (iki balgam, bir açlık mide suyu) negatif sonuç vermiştir. ARB negatif diğer iki örneğin (bir bronkoalveolar lavaj ve bir açlık mide suyu) Xpert MTB/RIF testi sonucu pozitif iken, kültür sonucu negatif olarak belirlenmiştir. Xpert MTB/RIF testinin solunum yolu örneklerinde duyarlılık, özgüllük, pozitif öngörü değeri (PÖD) ve negatif öngörü değeri (NÖD) sırasıyla % 97.5; % 99.8; % 98.3 ve % 99.7 olarak belirlenmiştir. ARB pozitif solunum yolu örneklerinde duyarlılık % 100 iken, özgüllük değeri hesaplanamamıştır.

ARB negatif solunum yolu örneklerinde ise duyarlılık ve özgüllük % 96.2 ve % 99.8 olarak belirlenmiştir.

Çalışmaya dahil edilen 700 solunum yolu dışı örneğin 24'ünün (% 3.4) hem kültür hem de Xpert MTB/RIF testi sonucu pozitifdir. Bu örneklerin 18'i (% 2.6) (12 biyopsi, üç plevra sıvısı, iki beyin omurilik sıvısı, bir idrar) ARB negatif, altısı (% 0.9) ARB pozitifdir. Xpert MTB/RIF testi ile ARB negatif, kültür pozitif olan beş (% 0.7) örnekte (iki BOS, bir apse, bir plevra sıvısı) MTBC varlığı saptanamamıştır. ARB negatif, kültür pozitif olan üç (% 0.4) örneğin (iki apse, bir biyopsi) Xpert MTB/RIF testi sonucu pozitifdir. Solunum yolu dışı örneklerde bu testin

Tablo 1. ARB pozitif ve ARB negatif solunum yolu örnekleri için Xpert MTB/RIF testinin değerlendirilmesi.

| Örnek türü | ARB (+) | | | | ARB (-) | | | |
|--|-----------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|--|------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| | Xpert MTB/RIF-/ Kültür - | Xpert MTB/RIF +/ Kültür + | Xpert MTB/RIF -/ Kültür + | Xpert MTB/RIF +/ Kültür - | Xpert MTB/RIF -/ Kültür - | Xpert MTB/RIF +/ Kültür + | Xpert MTB/RIF -/ Kültür + | Xpert MTB/RIF +/ Kültür - |
| Balgam (n=391) | - | 26 | - | - | 329 | 34 | 2 | - |
| BAL (n=40) | - | 2 | - | - | 35 | 2 | - | 1 |
| AMS (n=587) | - | 15 | - | - | 530 | 40 | 1 | 1 |
| Trakeal aspirat (n=4) | - | - | - | - | 4 | - | - | - |
| Toplam (n=1022) | - | 43 | - | - | 898 | 76 | 3 | 2 |
| Duyarlılık: % 100; Özgüllük: H; PÖD: % 100; NÖD: H | | | | | Duyarlılık: % 96.2; Özgüllük: 99.8; PÖD: % 97.4; NÖD: % 99.7 | | | |
| Duyarlılık: % 97.5; Özgüllük: 99.8; PÖD: % 98.3; NÖD: % 99.7 | | | | | | | | |

ARB: aside rezistan bakteri, AMS: Açlık mide suyu, PÖD: pozitif öngörü değeri, NÖD: negatif öngörü değeri, H: hesaplanamadı

Tablo 2. ARB pozitif ve ARB negatif solunum yolu dışı örnekler için Xpert MTB/RIF testinin değerlendirilmesi.

| Örnek türü | ARB (+) | | | | ARB (-) | | | |
|--|-----------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|--|------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| | Xpert MTB/RIF-/ Kültür - | Xpert MTB/RIF +/ Kültür + | Xpert MTB/RIF -/ Kültür + | Xpert MTB/RIF +/ Kültür - | Xpert MTB/RIF -/ Kültür - | Xpert MTB/RIF +/ Kültür + | Xpert MTB/RIF -/ Kültür + | Xpert MTB/RIF +/ Kültür - |
| Apse (n=98) | - | 4 | - | - | 91 | - | 1 | 2 |
| Biyopsi (n=217) | - | - | - | - | 203 | 12 | 1 | 1 |
| BOS (n=196) | - | - | - | - | 192 | 2 | 2 | - |
| Plevra sıvısı (n=84) | - | 1 | - | - | 79 | 3 | 1 | - |
| Periton diyaliz sıvısı (n=20) | - | - | - | - | 20 | - | - | - |
| İdrar (n=48) | - | 1 | - | - | 46 | 1 | - | - |
| *Diğer (n=37) | - | - | - | - | 37 | - | - | - |
| Toplam (n=1722) | - | 49 | - | - | 1566 | 94 | 8 | 5 |
| Duyarlılık: % 100; Özgüllük:H; PÖD: % 100; NÖD: H | | | | | Duyarlılık: % 78.3; Özgüllük: 99.6; PÖD: % 85.7; NÖD: % 99.3 | | | |
| Duyarlılık: % 82.8; Özgüllük: 99.6; PÖD: % 88.9; NÖD: % 99.3 | | | | | | | | |

ARB: aside rezistan bakteri, PÖD: pozitif öngörü değeri, NÖD: negatif öngörü değeri, H: hesaplanamadı

*Diğer: Asit, perikard ponksiyon, vitreus, eklem sıvısı, kemik iliği aspirasyonu, ejakülat

duyarlılığı, özgüllüğü, PÖD ve NÖD sırasıyla % 82.8; % 99.6; % 88.9 ve % 99.3 olarak hesaplanmıştır. ARB pozitif solunum yolu dışı örneklerde duyarlılık % 100 olarak belirlenmiş, özgüllük ise hesaplanamamıştır. ARB negatif örneklerde ise duyarlılık ve özgüllük % 78.3 ve % 99.6 olarak saptanmıştır.

Sonuçlar toplu olarak değerlendirildiğinde 1722 örneğin 143'ünün (% 8.3) hem kültür, hem de Xpert MTB/RIF testi sonucu pozitif bulunmuştur ancak bu örneklerin 94'ünün (% 5.5) preparatı ARB negatiftir. Tüm örnekler için duyarlılık, özgüllük, PÖD ve NÖD sırasıyla % 94.7; % 99.7; % 96.6 ve % 99.5'tir. ARB pozitif örneklerde duyarlılık % 100 olarak belirlenmiş, özgüllük ise hesaplanamamıştır. ARB negatif örneklerde ise duyarlılık ve özgüllük % 92.2 ve % 99.7 olarak belirlenmiştir.

Çalışma kapsamında incelenen örneklerin ve elde edilen sonuçların dağılımı Tablo 1'de gösterilmiştir. Xpert MTB/RIF testinin solunum yolu ve solunum yolu dışı örneklerdeki duyarlılığı, özgüllüğü, PÖD ve NÖD Tablo 2'de verilmiştir.

Hem kültür hem de Xpert MTB/RIF testi ile pozitif bulunan 143 örneğin 128'inin (% 89.5) RIF'e duyarlı, 15'inin (% 10.5) dirençli olduğu belirlenmiştir. Xpert MTB/RIF testinin sonuçları, MGIT 960 yöntemiyle yapılan İDT sonuçları ile % 100 uyumludur. Xpert MTB/RIF testi ve Bactec MGIT 960 yöntemi ile elde edilen duyarlılık sonuçlarının karşılaştırılması Tablo 3'de gösterilmiştir.

Xpert MTB/RIF testi 1729 örneğin 30'unda (% 1.7) belirsiz sonuç vermiştir. Bu örneklerin 23'ü ikinci kez çalışıldığında sonuç elde edilebilmiştir. Altısı için örneğin bitmesi nedeniyle test tekrarlanamamış, biri ise ikinci defa test edildiğinde yine belirsiz sonuç alınmıştır.

Tablo 3. RIF'e direncin saptanmasında Xpert MTB/RIF testinin değerlendirilmesi.

| (n=143) | Bactec MGIT 960 ile | |
|----------------------------------|---------------------|---------------|
| | RIF'e dirençli | RIF'e duyarlı |
| Xpert MTB/RIF ile RIF'e dirençli | 15 | - |
| Xpert MTB/RIF ile RIF'e duyarlı | - | 128 |
| Duyarlılık=% 100 | PÖD=% 100 | |
| Özgüllük=% 100 | NÖD=% 100 | |

PÖD: pozitif öngörü değeri, NÖD: negatif öngörü değeri

TARTIŞMA

DSÖ, Xpert MTB/RIF testini ÇİD-TB açısından risk altında olan veya HIV-pozitif olup, TB enfeksiyonu açısından risk taşıyan yetişkinlerde ve çocuklarda ilk başvurulacak test olarak önermektedir. Bu test 2010 yılında solunum yolu örnekleri, 2013 yılında ise aynı zamanda solunum yolu dışı örneklerde kullanılmak üzere DSÖ tarafından onaylanmıştır. Testin analitik duyarlılığı beş genom kopya saf DNA veya 131 cfu/ml *M.tuberculosis*'tir. Moleküler probalar 507 ve 553. kodonlar arasında bulunan ve RIF'e dirençli suşların % 95'inden fazlasında gözlenen mutasyonların bulunduğu rpoB geni hedef almaktadır. MTBC ve tüberküloz dışı mikobakteriler (TDM) arasında çapraz reaksiyon gözlenmemektedir. TDM DNA'sının varlığında veya duyarlı ve dirençli suşların bir arada olduğu durumlarda da RIF direncini saptayabilmektedir⁽²⁵⁾.

Yapılan araştırmalarda Xpert MTB/RIF testinin duyarlılık ve özgüllüğüyle ilgili bildirilen oranlar değişiklik göstermektedir. Bunun nedeninin hasta popülasyonu, hasta seçiminde göz önüne alınan kriterler, klinik örneğin türü, örneğin kalitesi, örneklerin işleme yöntemindeki değişiklik ve altın standart olarak kabul edilen yöntemdeki farklılıklar olduğu bildirilmektedir⁽¹³⁾.

Yapılan çalışmalarda solunum yolu örneklerinde Xpert MTB/RIF testinin duyarlılığı % 77.5-100; özgüllüğü % 94.3-100; PÖD ve NÖD ise sırasıyla % 86.5-95.7 ve % 91.7-99.5 olarak bildirilmiştir^(3-5,9,12,14,15,21). Bu çalışmada belirlenen duyarlılık, özgüllük, PÖD ve NÖD, diğer araştırmalarla uyumlu olarak sırasıyla % 97.5; % 99.8; % 98.3 ve % 99.7'dir. Başka çalışmalarda duyarlılık ve özgüllük ARB pozitif solunum yolu örneklerinde sırasıyla % 98-100; % 85.7-100 iken, negatif örneklerde % 67-100; % 96-99 olarak belirlenmiştir^(2-5,14,15, 23). Bu çalışmada ARB pozitif solunum yolu örneklerinde duyarlılık % 100 olup, özgüllük değeri hesaplanamamıştır. ARB negatif solunum yolu örneklerinde ise duyarlılık ve özgüllük % 96.2 ve % 99.8 olarak belirlenmiştir.

Akciğer dışı tüberkülozun tanısı, klinik örneklerdeki düşük bakteri yükü ve inhibitör maddelerin varlığı nedeniyle zordur⁽⁵⁾. Xpert MTB/RIF testinin bu örneklerde duyarlılığı % 33.3-100; özgüllüğü % 91.6-99.8; PÖD % 50-85.2 ve NÖD % 97.3-100 olarak bildirilmiştir^(4,5,9,10,12,21,22). Bu çalışmada solunum yolu dışı örneklerde duyarlılık, özgüllük, PÖD ve NÖD sırasıyla % 82.8; % 99.6; % 88.9 ve % 99.3 olarak belirlenmiştir. Araştırmacılar tarafından ARB pozitif solunum yolu dışı örneklerde duyarlılık ve özgüllük % 99-100; % 100 ve ARB negatif örneklerde ise % 20-70.3 ve % 99.3-99.6 olarak bildirilmiştir^(4,5,22). Bu çalışmada ARB pozitif solunum yolu dışı örneklerde duyarlılık % 100 olarak belirlenmiş, özgüllük ise hesaplanamamıştır. ARB negatif örneklerde ise duyarlılık ve özgüllük % 78.3 ve % 99.6 olarak hesaplanmıştır.

Solunum yolu ve solunum yolu dışı örnekler birlikte ele alındığında, Xpert MTB/RIF testinin duyarlılığı, özgüllüğü, PÖD ve NÖD sırasıyla % 73.3-100; % 93-99.3; % 86.5-

96 ve % 95.6-98.5 olarak bildirilmiştir^(4,6,9,12). Bu çalışmada ise sırasıyla % 94.7; % 99.7; % 96.6 ve % 99.5 olarak belirlenmiştir. Yapılan çalışmalarda duyarlılık ve özgüllük ARB pozitif örneklerde % 100 ve % 66.7-100; ARB negatif örneklerde ise % 40.4-86.3 ve % 93-99.4 olarak belirlenmiştir^(9,12). Bu çalışmada ise ARB pozitif örneklerde duyarlılık % 100 olarak belirlenmiş, özgüllük ise hesaplanamamıştır. ARB negatif örneklerde ise duyarlılık ve özgüllük % 92.2 ve % 99.7 olarak belirlenmiştir.

Xpert MTB/RIF testinin RIF direncini belirlemede duyarlılığı ve özgüllüğü solunum yolu örneklerinde sırasıyla % 87.5-100; % 98.3-100 ve solunum yolu dışı örneklerde % 81.8-100; % 100 olarak bildirilmiştir^(2,5,9,21). Singh ve ark.⁽²¹⁾'nin çalışmasında bir balgam ve bir apse örneğinde Xpert MTB/RIF testi ile RIF'e duyarlı olduğu saptanan bir suşun, İDT ile dirençli olduğu belirlenmiştir. Sekans analizi ile rpoB geninde mutasyona rastlanmamış, direncin efluks pompası veya bu gen dışındaki mutasyonlara bağlı olabileceği sonucuna varılmıştır. Ioannidis ve ark.⁽¹²⁾ RIF'e duyarlı ve dirençli suşları bir arada içeren bir örnekte Xpert MTB/RIF testi ile sonucun RIF'e duyarlı olarak belirlendiğini bildirmişlerdir. Marlowe ve ark.⁽¹⁴⁾ solunum yolu örneklerinin % 1.4'ünde (217 örneğin üçü) Xpert MTB/RIF testinin yanlış olarak RIF'e dirençli sonucunu verdiğini bildirmişlerdir. Bunsow ve ark.⁽⁴⁾ yaptıkları çalışmada Xpert MTB/RIF testi ile sekiz örneğin RIF'e dirençli olduğunu belirlemiş, ancak bunlardan yalnızca beşi İDT ile doğrulanmıştır. Yalancı pozitifliğin nedeninin örneklerin birinde düşük bakteri yüküne bağlı olarak amplifikasyondaki gecikmeden, diğer ikisinde ise fenotipik dirençle ilişkili olmayan sessiz bir mutasyondan kaynaklandığı belirtilmiştir. Bu çalışmada hem kül-

tür hem de Xpert MTB/RIF testi ile pozitif sonuç elde edilen 143 örneğin Xpert MTB/RIF testi ile 128'inin (% 89.5) RIF'e duyarlı, 15'inin (% 10.5) dirençli olduğu belirlenmiştir. Xpert MTB/RIF testinin sonuçları, MGIT 960 yöntemiyle yapılan İDT sonuçları ile % 100 uyumludur.

GeneXpert yazılımıyla "invalid", "error" veya "no result" olarak sonuç alındığında, test belirsiz olarak değerlendirilmektedir. Hillemann ve ark.⁽¹⁰⁾ örneklerin % 3.8'inden (521 örneğin 20'si) belirsiz sonuç aldıklarını ve en yüksek belirsiz sonuç oranının % 13 ile (23 örneğin 3'ü) dışkı örneklerinde olduğunu bildirmişlerdir. Boehme ve ark.⁽²⁾ ise % 2.4 oranında (5321 örneğin 126'sı) belirsiz sonuç elde etmişlerdir. Ioannidis ve ark.⁽¹²⁾ belirsiz sonuç oranının % 1.6 (121 örneğin ikisi) olduğunu bildirmişlerdir. Shah ve ark.⁽¹⁹⁾'nın belirsiz sonuç elde etme oranı % 2.5 (606 örneğin 15'i) olmuştur. Bu çalışmada örneklerin % 1.7'sinden belirsiz sonuç alınmıştır (1729 örneğin 30'u). Bu örneklerin 23'ü ikinci kez çalışıldığında sonuç elde edilebilmiştir. Altısı için örneğin bitmesi nedeniyle test tekrarlanamamış, biri ise ikinci defa test edildiğinde yine belirsiz sonuç alınmıştır.

Hillemann ve ark.⁽¹⁰⁾ Xpert MTB/RIF testinin biyopsi örnekleri için duyarlılığını % 69 olarak belirlemişlerdir. Araştırmacılar, proteinaz K ile ön inkübasyon basamağı eklemenin testin lizis solüsyonunun etkinliğini arttırdığını saptamışlardır. Tortoli ve ark.⁽²²⁾ doku biyopsisi örneklerinde duyarlılığı % 75 olarak hesaplamışlardır. Bu çalışmada biyopsi örneklerinde diğer çalışmalardan daha yüksek olarak duyarlılık % 92.3 ve özgüllük % 99.5 olarak belirlenmiştir.

Tüberkülozun en ağır formu olan menenjitte mikrobiyolojik tanı nadiren gerçekleştirilebilmekte ve tedavi genellikle

geciktirmektedir⁽¹⁶⁾. Nhu ve ark.⁽¹⁶⁾ Xpert MTB/RIF testinin BOS'ta duyarlılık ve özgüllüğünü sırasıyla % 59.3 ve % 99.5 olarak bildirmişlerdir. Duyarlılığın düşük olmasının nedenini BOS'ta inhibitör maddelerin varlığı, testin saptayabileceği limitin altında bakteri içermesi, test için yeterli örnek miktarının elde edilmesinin güçlüğü olarak açıklamışlardır. Örneklerin işlenmesi sırasında eklenen vorteksleme aşaması sonrasında testin duyarlılığının % 20.6 oranında arttığını belirlemişlerdir. BOS örneklerinde duyarlılığın artırılması için test öncesi santrifüjleme veya örnek hacminin yükseltilmesi gibi bazı değişiklikler gerekmektedir⁽²¹⁾. Hillemann ve ark.⁽¹⁰⁾ BOS'ta duyarlılığın hesaplanmadığını, ancak özgüllüğün % 100 olarak belirlendiğini bildirmişlerdir. Tortoli ve ark.⁽²²⁾ bu örneklerde duyarlılığı % 85.7 olarak belirlemişlerdir. Bhatia ve ark.⁽¹⁾ yalnızca çocuk hastaları dahil ettikleri araştırmalarında duyarlılığı % 38.2 olarak belirlemişlerdir. Bu çalışmada BOS örnekleri için duyarlılık ve özgüllük % 50 ve % 100 olarak hesaplanmıştır.

Sonuç olarak, Xpert MTB/RIF testi hem solunum yolu, hem de solunum yolu dışı örneklerde MTBC varlığının belirlenmesinde duyarlılığı ve özgüllüğü yüksek, hızlı ve kolay uygulanabilir bir yöntem olarak belirlenmiştir. Ancak bu test ile RIF'e dirençli olduğu belirlenen *M.tuberculosis* suşlarının sonuçlarının konvansiyonel İDT ile tekrarlanmasının doğru olacağı düşünülmüştür.

KAYNAKLAR

1. Bhatia R, Dayal R, Jindal S, Agarwal D, Goyal A. GeneXpert for diagnosis of tubercular meningitis, *Indian J Pediatr* 2016;83(11):1353-5. <https://doi.org/10.1007/s12098-016-2096-0>
2. Boehme CC, Nicol MP, Nabeta P et al. Feasibility, diagnostic accuracy, and effectiveness of decentral-

- lized use of the Xpert MTB/RIF test for diagnosis of tuberculosis and multidrug resistance: a multi-centre implementation study, *Lancet* 2011; 377(9776):1495-505.
[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(11\)60438-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(11)60438-8)
3. Bojang AL, Mendy FS, Tientcheu LD et al. Comparison of TB-LAMP, GeneXpert MTB/RIF and culture for diagnosis of pulmonary tuberculosis in the Gambia, *J Infect* 2016;72(3):332-7.
<https://doi.org/10.1016/j.jinf.2015.11.011>
 4. Bunsow E, Ruiz-Serrano MJ, Roa PL, 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.
<https://doi.org/10.1016/j.jinf.2013.11.012>
 5. Çavuşoğlu C, Soyulu M. Klinik örneklerden tüberküloz tanısı ve hızlı rifampisin direnci saptanmasında GeneXpert MTB/RIF testinin performansının değerlendirilmesi, *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2014;44(2):61-4.
 6. Çiftçi İH, Aslan MH, Aşık G. Klinik örneklerde Mycobacterium tuberculosis varlığının gösterilmesinde Xpert MTB/RIF sonuçlarının değerlendirilmesi, *Mikrobiyol Bul* 2011;45(1):43-7.
 7. CLSI. Laboratory detection and identification of mycobacteria; approved guideline. CLSI document M48-A. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; (2008).
 8. Günther G. Multidrug-resistant and extensively drug-resistant tuberculosis: a review of current concepts and future challenges, *Clin Med* 2014;14(3):279-85.
<https://doi.org/10.7861/clinmedicine.14-3-279>
 9. Gürsoy NC, Yakupoğulları Y, Tekerekoğlu MS, Otlu B. Klinik örneklerden Mycobacterium tuberculosis saptanması ve rifampin direnci tespitinde Xpert MTB/RIF testinin tansal performansının değerlendirilmesi, *Mikrobiyol Bul* 2016;50(2):196-204.
<https://doi.org/10.5578/mb.21033>
 10. Hillemann D, Rüsç-Gerdes S, Boehme C, Richter E. Rapid molecular detection of extrapulmonary tuberculosis by the automated GeneXpert MTB/RIF system, *J Clin Microbiol* 2011;49(4):1202-5.
<https://doi.org/10.1128/JCM.02268-10>
 11. <http://tuberkuloz.thsk.saglik.gov.tr/etkinlikler/guncel-istatistikler/869-tb.html>
 12. Ionnidis P, Papaventsis D, Karabela S ve ark. Cepheid GeneXpert MTB/RIF assay for Mycobacterium tuberculosis detection and rifampin resistance identification in patients with substantial clinical indications of tuberculosis and smear-negative microscopy results, *J Clin Microbiol* 2011;49(8):3068-70.
<https://doi.org/10.1128/JCM.00718-11>
 13. Lawn SD, Zumla AI. Diagnosis of extrapulmonary tuberculosis using the Xpert MTB/RIF assay, *Expert Rev Anti Infect Ther* 2012;10(6):631-5.
<https://doi.org/10.1586/eri.12.43>
 14. Marlowe EM, Novak-Weekley SM, Cumpio J ve ark. 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>
 15. Matabane MMZ, Ismail F, Strydom KA, Onwuegbuna O, Omar SV, Ismail N. Performance evaluation of three commercial molecular assays for the detection of Mycobacterium tuberculosis from clinical specimens in a high TB-HIV-burden setting, *BMC Infect Dis* 2015;15:508-14.
<https://doi.org/10.1186/s12879-015-1229-9>
 16. Nhu NTQ, Heemskerck D, Thu DDA et al. Evaluation of GeneXpert MTB/RIF for diagnosis of tuberculous meningitis, *J Clin Microbiol* 2014;52(1):226-33.
<https://doi.org/10.1128/JCM.01834-13>
 17. Parsons LM, Somoskövi A, Gutierrez C et al. Laboratory diagnosis of tuberculosis in resource-poor countries: Challenges and opportunities, *Clin Microbiol Rev* 2011;24(2):314-50.
<https://doi.org/10.1128/CMR.00059-10>
 18. Piatek AM, van Cleff M, Alexander H et al. GeneXpert for TB diagnosis: planned and purposeful implementation, *Glob Health Sci Pract* 2013;1(1):18-23.
<https://doi.org/10.9745/GHSP-D-12-00004>
 19. Shah SK, Kumar AMV, Dogar OF et al. Xpert MTB/RIF under routine conditions in diagnosing pulmonary tuberculosis: a study in two hospitals in Pakistan, *PHA* 2013;3(1):20-2.
<https://doi.org/10.5588/pha.12.0081>
 20. Siddiqi SH, Rusch-Gerdes S. MGIT Procedure Manual. Geneva, Switzerland: Foundation for Innovative New Diagnostics, (2006).
 21. Singh UB, Pandey P, Mehta G et al. Genotypic, phenotypic and clinical validation of GeneXpert in extra-pulmonary and pulmonary tuberculosis in India, *PLoS One* 2016;11(2):e0149258.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0149258>
 22. 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.
<https://doi.org/10.1183/09031936.00176311>
 23. Walusimbi S, Bwanga F, De Costa A, Haile M, Joloba M, Hoffner S. Meta-analysis to compare the accuracy of GeneXpert, MODS and the WHO 2007 algorithm for diagnosis of smear-negative pulmonary tuberculosis, *BMC Infect Dis* 2013;13:507-19.
<https://doi.org/10.1186/1471-2334-13-507>
 24. World Health Organization. Global tuberculosis report 2016. WHO, Geneva, Switzerland, (2016).
 25. World Health Organization. Xpert MTB/RIF implementation manual. WHO, Geneva, Switzerland, (2014).