

***Mycobacterium tuberculosis* kompleks ve Rifampisin Direncinin Saptanmasında Hızlı Moleküler Yöntemle Konvansiyonel Yöntemlerin Karşılaştırılması**

*Comparison of a Rapid Molecular Method with Conventional Methods for Identification of *Mycobacterium tuberculosis* complex and Detection of Rifampicin Resistance*

Emre Özkarataş**¹, Müge Hacer Özkarataş**², Ayşe Aydan Özkütük**³, Nuran Esen**⁴

*Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Temel İmmünoloji Bilim Dalı, Adana

**Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir

Öz

Amaç: Bu çalışmada, Haziran 2012-Kasım 2016 tarihleri arasında Dokuz Eylül Üniversitesi Hastanesi Merkez Laboratuvarı'nda kullanılan GeneXpert MTB/RIF (GX) testinin *Mycobacterium tuberculosis* kompleks (MTK) tanısı ve rifampisin (RIF) direncinin saptanmasındaki performansının mikroskopi ve kültür yöntemleriyle karşılaştırılarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: Klinik istem doğrultusunda Kinyoun boyalı mikroskopik inceleme ve kültür yöntemleriyle birlikte GX testi çalışılan 4.199 hasta örneğinin (1361 akciğer, 2.838 akciğer dışı örnek) sonuçları retrospektif olarak çalışmaya alınmıştır.

Bulgular: MTK saptanmasında kültür referans yöntem alınarak; GX testinin duyarlılığı ve özgüllüğü sırasıyla, tüm örneklerde %74.5 ve %99.1; akciğer örneklerinde %82.7 ve %98.7; akciğer dışı örneklerde %67.2 ve %99.3 olarak hesaplanmıştır. Mikroskopik incelemenin duyarlılık ve özgüllüğü sırasıyla, tüm örneklerde %16.4 ve %99.7; akciğer örneklerinde %28.8 ve %99.2; akciğer dışı örneklerde %5.2 ve %99.9 olarak hesaplanmıştır. Tüm örneklerde ve akciğer ile akciğer dışı örneklerde GX testiyle mikroskopik incelemenin duyarlılıkları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.001$). MGIT SIRE yöntemiyle elde edilen RIF duyarlılık sonuçları referans alındığında, GX testinin RIF direncini saptamadaki duyarlılığı %100, özgüllüğü %95.8 olarak hesaplanmıştır.

Sonuç: Sonuç olarak, GX testinin kolay uygulanabilirliği, iki saat içinde doğrudan klinik örnekten MTK DNA'sı ve RIF direncini birlikte saptayabilmesi, mikroskopik incelemeye göre duyarlılığının daha yüksek olması göz önünde bulundurulduğunda TB hızlı tanısında yararlı bir yöntem olduğu sonucuna varılmıştır. Ancak, test sonuçlarının daima kültür yöntemleriyle doğrulanması önerilmektedir.

Anahtar kelimeler: *Mycobacterium tuberculosis* kompleks, GeneXpert MTB/RIF, moleküler tanı, tüberküloz.

Alındığı tarih / Received:

10.09.2019 / 10.September.2019

Kabul tarihi / Accepted:

11.10.2019 / 11.October.2019

Yayın tarihi / Publication date:

31.03.2020 / 31.March.2020

ORCID Kayıtları

E. Özkarataş 0000-0003-3578-4725
M. H. Özkarataş 0000-0001-8897-0121
A. A. Özkütük 0000-0002-1710-2287
N. Esen 0000-0001-9796-3003

✉ emreozkaratas@gmail.com

Atf: Özkarataş E, Özkarataş MH, Özkütük AA, Esen N. *Mycobacterium tuberculosis* kompleks ve rifampisin direncinin saptanmasında hızlı moleküler yöntemle konvansiyonel yöntemlerin karşılaştırılması. Türk Mikrobiyol Cemiy Derg. 2020;50(1):10-20.

ABSTRACT

Objective: In this study, it was aimed to evaluate the performance of GeneXpert MTB/RIF (GX) assay used for the identification of *Mycobacterium tuberculosis* complex (MTC) and detection of rifampicin (RIF) resistance in the Central Laboratory of Dokuz Eylul University Hospital between June 2012, and November 2016 by comparing microscopic, and culture methods.

Method: The results of 4.199 patient samples (1361 pulmonary and 2838 extrapulmonary) using Kinyoun's staining method for microscopic examination, culture methods and GX test as requested by clinics were retrospectively included in the study.

Results: By using culture as the reference method for the detection of MTC; sensitivity and specificity of GX assay were determined as 74.5% and 99.1% for all specimens; 82.7% and 98.7% for pulmonary specimens; 67.2% and 99.3% for extrapulmonary specimens, respectively. The sensitivity and specificity of microscopic examination were found to be 16.4% and 99.7% for all specimens; 28.8% and 99.2% for pulmonary specimens; and 5.2% and 99.9% for extrapulmonary specimens, respectively. The difference between the sensitivities of the GX assay and the microscopic examination was found statistically significant for all samples and for the pulmonary and extrapulmonary samples ($p<0.001$). By using the drug susceptibility test results of the MGIT SIRE as a reference; the sensitivity and specificity of the GX test for detecting RIF resistance was 100% and 95.8%, respectively.

Conclusion: In conclusion, GX assay is useful for rapid diagnosis of TB considering that the test is easily applicable and directly detects MTC DNA and resistance to RIF within 2 hours and is superior in sensitivity than microscopic examination. However, test results should always be confirmed by culture methods.

Keywords: *Mycobacterium tuberculosis* complex, GeneXpert MTB/RIF, molecular diagnosis, tuberculosis

GİRİŞ

Tüberküloz (TB), dünya çapında ölümlerin ve tek enfeksiyöz ajan kaynaklı hastalıkların önde gelen nedenlerinden biridir. 2017 yılında yaklaşık 10 milyon yeni TB olgusunun mevcut olduğu, TB nedeniyle 1.3 milyon ölüm olduğu tahmin edilmektedir. Ülkemizde 2017 yılı verilerine göre TB'nin insidans hızı yüz binde 17 ve mortalite hızı yüz binde 0.53 olarak verilmiştir⁽¹⁾.

HIV enfeksiyonu sıklığında artış ve aktif TB ile ilişkili oluşu, *Mycobacterium tuberculosis* kompleks (MTK) suşlarında birinci seçenek anti-TB ilaçlara karşı gelişen direncin artması mevcut TB epidemisinin devam etmesinin temel nedenleridir⁽²⁾. Çok ilaca dirençli-TB (ÇİD-TB) suşları duyarlı suşlarla kıyaslandığında daha yüksek relaps ve mortalite oranlarına sahiptir. ÇİD-TB aynı zamanda yaygın ilaç dirençli-TB'nin (YİD-TB) ortaya çıkması açısından da risk faktörüdür. Bu iki durum dünya çapında TB ve HIV kontrol programlarını olumsuz etkilemektedir^(1,2). Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından, diğer ilaçlara direnç olsun veya olmasın rifampisin (RIF) dirençli-TB (RD-TB) tedavisinde ÇİD-TB olgularındaki gibi ikinci basamak ilaçların kullanılması gerektiği belirtilmektedir⁽¹⁾.

Küresel TB 2018 Raporu'nda; dünya çapında önceden tedavi edilmiş olguların yaklaşık %18'inde ve yeni TB olgularının yaklaşık %3.5'inde, Türkiye'de ise önceden tedavi edilmiş olguların yaklaşık %14'ünde ve yeni TB olgularının %3.3'ünde ÇİD/RD-TB olduğu bildirilmiştir⁽¹⁾.

TB tanısında mikroskopik inceleme ile aside dirençli basil (ARB) aranması, hızlı ve ucuz olmasına karşın, düşük duyarlılığa sahiptir. Kültür tanıda altın standarttır ve ilaç duyarlılık testi (İDT) kültür yöntemleriyle yapılmaktadır. Ancak, kültürün sonuçlanması 2-8 hafta kadar zaman almakta ve ek biyogüvenlik önlemleriyle eğitilmiş personel gerektirmektedir⁽²⁻⁵⁾. Örnek alımından sonra ortalama 30 gün içinde İDT sonuçlarının rapor edilmesi gerektiği bildirilmektedir^(2,3,6).

MTK ilaç direncinin ve ÇİD/RD-TB suşlarının hızlı tanısı TB hastalarının etkin tedavisini sağlamakta ve ek ilaç direnci gelişimini sınırlamaktadır^(2,6). Günümüzde, tedaviye daha erken başlama olanağı, hastalığın bulaşının azalması ve daha etkin halk sağlığı müdahalelerine olanak sağlamak amacıyla polimeraz zincir reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction; PCR) gibi moleküler yöntemler, klinik örnekten hızlı tanıyı desteklemek üzere kullanılmaya başlanmıştır^(4,7).

Moleküler çalışmalarla RNA polimerazın beta-alt ünitesini kodlayan rpoB geninin *M. tuberculosis*'de RIF direnciyle ilişkili ana hedef olduğu tanımlanmıştır⁽⁸⁾. GeneXpert MTB/RIF (Cepheid, Sunnyvale, CA, ABD) testiyle rpoB geninin MTK spesifik gen bölgesi amplifiye edilerek, hemi-nested gerçek zamanlı-PCR yöntemiyle, klinik örnekte hem MTK varlığı hem de RIF direnci gösterilmektedir. Bakteriyel lizis, nükleik asit ekstraksiyonu, amplifikasyon ve amplikon belirlenmesi için gerekli tüm reaktifleri içeren tek kullanımlık plastik bir kartuş içinde MTB/RIF test platformunda (GeneXpert, Cepheid) gerçekleşen ve uygulaması kolay olan bu yöntem yaklaşık iki saat içinde sonuç vermektedir⁽⁹⁾.

Bu çalışmada, TB ön tanısı ile Dokuz Eylül Üniversitesi Hastanesi Merkez Laboratuvarı Mikobakteriyoloji Birimi'ne gönderilen klinik örneklerde; MTK tanısı ve RIF direncinin belirlenmesinde GeneXpert MTB/RIF (GX) testinin performansının, boyalı mikroskopik inceleme ve altın standart yöntem olan kültür yöntemleriyle elde edilen sonuçlarla karşılaştırılarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Haziran 2012 ile Kasım 2016 tarihleri arasında, TB ön tanısı ile Dokuz Eylül Üniversitesi Hastanesi Merkez Laboratuvarı Mikobakteriyoloji Birimi'ne gönderilmiş olan mikroskopik inceleme ve kültür yöntemleri ile birlikte GX testinin çalışıldığı 1.361'i akciğer, 2.838'i akciğer dışı toplam 4.199 örnek çalışmaya dâhil edildi.

Dokuz Eylül Üniversitesi Hastanesi Merkez Laboratuvarı Mikobakteriyoloji Birimi'ne gelen örneklerden, akciğer örnekleri ve steril olmayan klinik örneklerin homojenizasyon ve dekontaminasyonu N-asetil-L-sistein ve %4'lük sodyum hidroksit yöntemine dayanan Mycoprosafe® (Salubris, Türkiye) ticari kiti kullanılarak yapıldı. Steril olduğu kabul edilen örnekler dekontaminasyon işlemi uygulanmadı. Hazırlanan örneklerden, katı besiyeri olarak Löwenstein-Jensen (LJ) besiyeri (Becton Dickinson, ABD) ve sıvı besiyeri olarak "Mycobacteria Growth Indicator Tube" (MGIT) kullanılarak (Becton Dickinson, ABD) üretici talimatlarına göre ekim yapıldı. Örneklerden hazırlanan yayma preparatlar Kinyoun yöntemi ile boyanarak ARB varlığı açısından ışık mikroskopunda değerlendirildi. LJ besiyerlerinin üremeleri sekiz hafta boyunca haftada bir kez kontrol edilerek, sıvı besiyerleri BACTEC MGIT 960 (Becton Dickinson, ABD) sistemi ile 37°C'de altı hafta inkübe edilerek sürdürüldü. Bu süre sonunda üreme olmayan örnekler negatif olarak değerlendirildi. Üreme olan besiyerlerinden hazırlanan yayma preparatların mikroskopik incelemesinde ARB görülmesi durumunda MTK ile tüberküloz dışı mikobakteri (TDM) ayrımı amacıyla MTK'ye ait MPT64 antijenini saptamaya yönelik bir test olan "TBC Identification Test" (Becton Dickinson, ABD) üretici talimatlarına göre uygulandı ve yorumlandı. MTK olarak tanımlanan izolatların ilaç duyarlılığı BACTEC MGIT 960 SIRE yöntemi (Becton Dickinson, ABD) ile üretici firma önerileri doğrultusunda gerçekleştirildi. GX testi ise üretici firma önerileri doğrultusunda çalışıldı.

MTK için kültür pozitifliği referans alınarak, GX testi ve mikroskopik incelemenin duyarlılık, özgüllük, pozitif öngörü değeri (PÖD) ve negatif öngörü değeri (NÖD) hesaplandı. GX testi ve mikroskopik inceleme sonuçları arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık olup olmadığı McNemar testi kullanılarak araştırıldı. BACTEC MGIT 960 SIRE yöntemi ile elde edilen İDT sonuçları referans alındığında, GX testinin RIF direncini saptamadaki duyarlılık ve özgüllüğü incelendi. Bu inceleme yapılırken, GX testinde MTK DNA'sı saptanmayan örnekler, MTK DNA'sı saptanıp RIF direnci

belirsiz olan örnekler ve MGIT SIRE yöntemi ile İDT sonucu var olmayan örneklere (geçersiz sonuç veya kültürde üreme olmaması) ait sonuçlar araştırma dışı tutuldu. p değerinin 0.05'in altında olduğu durumlar istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar şeklinde değerlendirildi. Verilerin istatistiksel analizleri SPSS (Ver. 15, ABD) yazılımı kullanılarak yapıldı. Araştırmada Dokuz Eylül Üniversitesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu onayı (08.05.2019 tarih, 2019/12-06 No.) alınmıştır.

BULGULAR

Çalışmamızda merkez laboratuvarımıza gönderilen klinik örnekler uygulanan Kinyoun boyalı mikroskopik inceleme, kültür ve GX testi sonuçları retrospektif olarak karşılaştırıldı.

Çalışmaya dâhil edilen 4.199 örnekten 1361'i (%32.4) akciğer, 2.838'i (%67.6) akciğer dışı örneklerden oluşmaktaydı. Akciğer örneklerinin; %36.6'sı (498) balgam, %30.3'ü (412) bronş lavaj (BL), %14.8'i (202) bronkoalveolar lavaj (BAL), %12.1'i (165) açlık mide sıvısı (AMS) ve %6.2'si (84) trakeal sekret (TS) örneği idi. Akciğer dışı örneklerin; %47.9'u (1359) steril vücut sıvısı, %27.2'si (771) doku örneği, %10.7'si (305) abse ve aspirasyon materyali, %8.2'si (234) idrar örneği, %2'si (56) kemik iliği örneği, %1.9'u (53) kan örneği ve %2.1'i (60) ise diğer örnekler (dışkı, sürüntü örnekleri gibi) idi. Steril vücut sıvılarının, %43.4'ü (590) plevra sıvısı, %33.7'si (458) beyin omurilik sıvısı (BOS), %10'u (136) periton sıvısı, %7.2'si (98) eklem sıvısı ve %5.7'si (77) perikard sıvısı örneği idi. Doku örneklerinin; %82.1'i (633) doku biyopsi örneği, %17.1'i (132) lenf nodu biyopsisi ve %0.8'i (6) plevral biyopsi örneği idi.

Çalışmaya dâhil edilen 4.199 örneğin 110'unda (%2.6) kültürde MTK üremesi saptanırken, bunların 52'si (%47.3) akciğer örneklerinden, 58'i (%52.7) ise akciğer dışı örneklerden oluşmaktaydı. Kültürde MTK üremesi saptanan 110 örneğin GX testi ile 82'sinde MTK DNA'sı saptanırken (%74.5), mikroskopik incelemede 18'inde (%16.4) ARB görüldü. Çalışmaya alınan

Tablo 1. Akciğer örneklerinin kültür, mikroskopi ve GeneXpert MTB/RIF testi sonuçları.

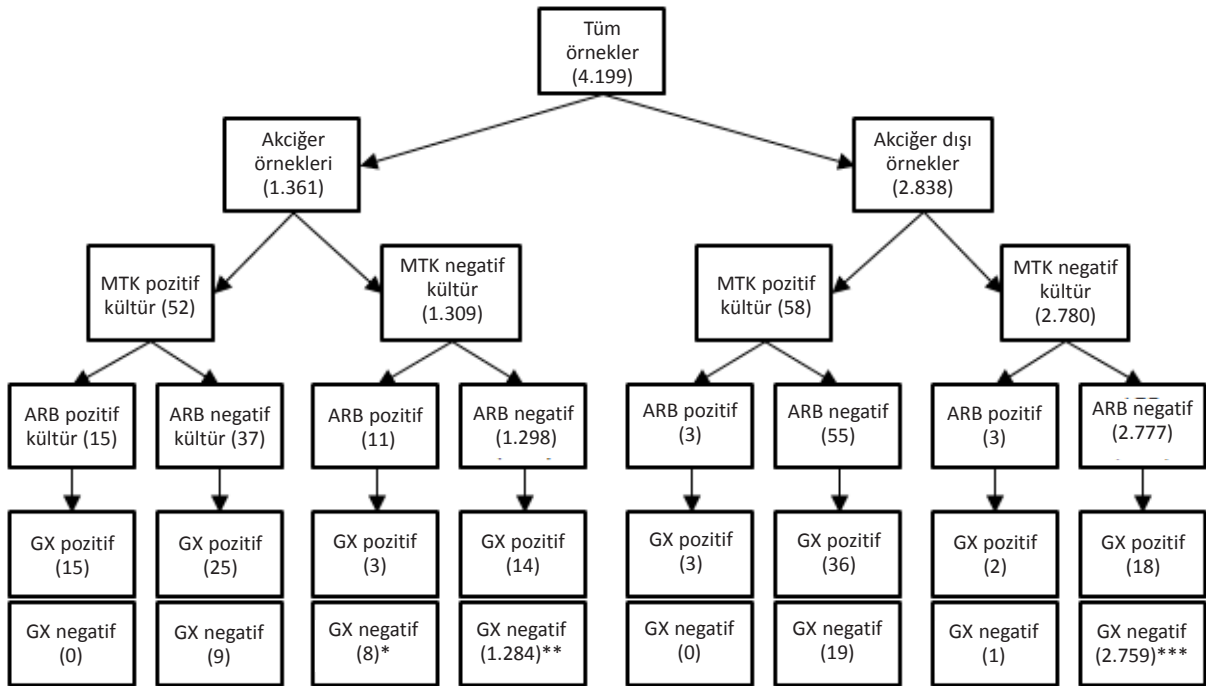
| Örnek türü | Pozitif MTK kültürü | | | | Negatif MTK kültürü | | | | Toplam |
|--------------------------|---------------------|--------|---------|--------|---------------------|--------|---------|--------|--------|
| | ARB (+) | | ARB (-) | | ARB (+) | | ARB (-) | | |
| | GX (+) | GX (-) | GX (+) | GX (-) | GX (+) | GX (-) | GX (+) | GX (-) | |
| Balgam | 10 | 0 | 11 | 4 | 2 | 4 | 8 | 459 | 498 |
| Bronş lavajı | 5 | 0 | 11 | 5 | 1 | 4 | 5 | 381 | 412 |
| Bonkoalveolar lavaj | 0 | 0 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 199 | 202 |
| Açlık mide suyu | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 165 | 165 |
| Trakeal aspirat | 0 | 0 | 3 | 0 | 0 | 0 | 1 | 80 | 84 |
| Akciğer örnekleri (tümü) | 15 | 0 | 28 | 9 | 3 | 8 | 14 | 1284 | 1361 |

MTK: *Mycobacterium tuberculosis* kompleksi; GX: GeneXpert MTB/RIF

örneklerin 32'sinde (%0.8) mikroskopik incelemede ARB pozitifliği var olup, bunların 26'sı (%81.2) akciğer örneği, 6'sı (%18.8) ise akciğer dışı örnek idi. mikroskopik incelemede ARB görülen örneklerin 18'inde (%56.3) kültürde MTK üremesi saptanırken, ARB pozitif beş örneğin (%15.6) kültürde TDM üremesi mevcuttu, dokuz örnekte (%28.1) ise inkübasyon süresi sonunda üreme olmadı. Örneklerin 119'unda (%2.8) GX testi ile MTK DNA'sı saptandı. Bunların 60'ı (%50.4) akciğer örneği, 59'u (%49.6) ise akciğer dışı örnek idi. GX testi ile MTK DNA'sı saptanan örneklerin 82'sinde (%68.9) kültürde MTK üremesi mevcut

olup, 37'sinde (%31.1) inkübasyon süresi sonunda üreme olmadı (Şekil 1). Örnek türlerinin kültür, mikroskopi ve GX testi sonuçları Tablo 1 (Akciğer örnekleri) ve Tablo 2 (akciğer dışı örnekler)'de gösterilmektedir.

Örneklerin 41'inde (%1) kültürde TDM üremesi saptandı. Bunlardan mikroskopik inceleme sonucunda, beş örnekte ARB (%12.2) görülürken, 36'sında (%87.8) ARB görülmedi. Kültürde TDM üreyen örneklerin hiçbirinde GX testi ile MTK DNA'sı saptanmadı, çapraz reaktivite gözlenmedi.



*Beş örneğin kültür sonucu TDM, **29 örneğin kültür sonucu TDM, *** 7 örneğin kültür sonucu TDM.

Şekil 1. Örneklerin kültür, ARB mikroskopi ve GeneXpert MTB/RIF (GX) testi sonuçları.

Tablo 2. Akciğer dışı örneklerin kültür, mikroskopi ve GeneXpert MTB/RIF testi sonuçları.

| Örnek türü | Pozitif MTK kültürü | | | | Negatif MTK kültürü | | | | Toplam |
|------------------------------|---------------------|--------|---------|--------|---------------------|--------|---------|--------|--------|
| | ARB (+) | | ARB (-) | | ARB (+) | | ARB (-) | | |
| | GX (+) | GX (-) | GX (+) | GX (-) | GX (+) | GX (-) | GX (+) | GX (-) | |
| Plevra sıvısı | 0 | 0 | 2 | 3 | 0 | 0 | 0 | 585 | 590 |
| BOS | 0 | 0 | 6 | 3 | 0 | 0 | 2 | 447 | 458 |
| Periton | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 135 | 136 |
| Eklemler sıvısı | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 98 | 98 |
| Perikard sıvısı | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 77 | 77 |
| Doku biyopsisi | 1 | 0 | 6 | 4 | 0 | 0 | 7 | 615 | 633 |
| Lenf nodu | 2 | 0 | 1 | 6 | 0 | 0 | 0 | 123 | 132 |
| Plevral biyopsi | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 6 | 6 |
| Abse/aspirasyon materyali | 0 | 0 | 18 | 1 | 2 | 1 | 4 | 279 | 305 |
| İdrar | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 2 | 231 | 234 |
| Kemik iliği | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 55 | 56 |
| Kan | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 52 | 53 |
| Diğer örnekler | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 3 | 56 | 60 |
| Akciğer dışı örnekler (tümü) | 3 | 0 | 36 | 19 | 2 | 1 | 18 | 2759 | 2.838 |

MTK: *Mycobacterium tuberculosis* kompleksi; GX: GeneXpert MTB/RIF

Tablo 3. Kültür referans yöntem alınarak MTK saptanmasında GeneXpert MTB/RIF (GX) testinin duyarlılık, özgüllük, pozitif öngörü (PÖD) ve negatif öngörü (NÖD) değerleri (%).

| Test - Örnek tipi | Duyarlılık | Özgüllük | PÖD | NÖD |
|----------------------------------|------------|----------|------|-------|
| GX testi - Tüm örnekler | 74.5 | 99.1 | 68.9 | 99.3 |
| GX testi - Akciğer örnekleri | 82.7 | 98.7 | 71.7 | 99.3 |
| GX testi - Akciğer dışı örnekler | 67.2 | 99.3 | 66.1 | 99.3 |
| GX testi - ARB pozitif örnekler | 100.0 | 64.3 | 78.3 | 100.0 |
| GX testi - ARB negatif örnekler | 69.6 | 99.2 | 66.7 | 99.3 |

MTK saptanmasında kültür referans yöntem alınarak, GX testinin duyarlılığı %74.5, özgüllüğü %99.1, PÖD %68.9 ve NÖD %99.3 olarak (Tablo 3); mikroskopik incelemenin duyarlılığı %16.4, özgüllüğü %99.7, PÖD %56.3 ve NÖD %97.8 olarak (Tablo 4) bulundu.

Tüm örneklerde ve akciğer ile akciğer dışı örneklerde GX testi ile mikroskopik incelemenin duyarlılıkları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0.001$).

Akciğer örneklerinde GX testinin duyarlılığı; balgamda %84 (21/25) ve BL'de %76.2 (16/21) saptanırken, kültürde MTK üremesi saptanan üç adet BAL ve üç adet TS örneklerinin tümünde GX testi pozitif bulunmuştur.

Akciğer dışı örneklere ait GX testinin duyarlılığı; abse-aspirasyon materyallerinde %94.7 (18/19), doku

Tablo 4. Kültür referans yöntem alınarak MTK saptanmasında mikroskopik incelemenin duyarlılık, özgüllük, pozitif öngörü (PÖD) ve negatif öngörü (NÖD) değerleri (%).

| Test - Örnek tipi | Duyarlılık | Özgüllük | PÖD | NÖD |
|--|------------|----------|------|------|
| Mikroskopik inceleme - Tüm örnekler | 16.4 | 99.7 | 56.3 | 97.8 |
| Mikroskopik inceleme - Akciğer örnekleri | 28.8 | 99.2 | 57.7 | 97.2 |
| Mikroskopik inceleme - Akciğer dışı örnekler | 5.2 | 99.9 | 50.0 | 98.1 |

biyopsisinde %63.6 (7/11) ve lenf nodu biyopsisinde %33.3 (3/9) olmak üzere tüm doku örneklerinde %50 (10/20) olarak saptanırken, kültürde MTK üremesi saptanan dokuz BOS örneğinin altısında, beş plevra sıvısının ikisinde, bir idrar ve bir kan örneğinde GX testi pozitif bulunmuştur. Ancak kültürde MTK üremesi bulunan bir periton sıvısı ve bir kemik iliği örneğinde GX testi negatif sonuç vermiştir.

Mikroskopik incelemede ARB görülen ancak kültürde üremesi olmayan ve GX testi ile MTK DNA'sı saptanmayan dört örnekten birinin örneklenmesi sırasında hastanın anti-TB tedavi aldığı saptandı. mikroskopik incelemede ARB görülen ve GX testinde MTK DNA'sı saptanan, ancak kültürde üremesi olmayan beş örneğin tamamında hastaların örnek alımı sırada anti-TB tedavi aldığı izlendi. GX testi ile MTK DNA'sı saptanan, ancak mikroskopik incelemede ARB görülmeyen

Tablo 5. MGIT SIRE yöntemi ve GeneXpert MTB/RIF testi ile elde edilen RIF duyarlılık sonuçları (n).

| GX testi | MGIT SIRE yöntemi | | Toplam |
|--|-------------------|-------------|--------|
| | RIF dirençli | RIF duyarlı | |
| MTK DNA'sı saptandı - RIF direnci saptandı | 1 | 3 | 4 |
| MTK DNA'sı saptandı - RIF direnci saptanmadı | 0 | 69 | 69 |
| Toplam | 1 | 72 | 73 |

ve kültürde üremesi olmayan 32 örnekten 18'inin örnek alındığı sırada ilgili hastaların anti-TB tedavisi altında olduğu saptandı.

Kültürde MTK üremesi saptanan 110 örneğe MGIT SIRE yöntemi ile İDT yapıldı, bunların 14'ünde sonuç geçersiz bulundu. Geri kalan 96 örnekten ikisinde MGIT SIRE yöntemi ile RIF dirençli bulundu, GX testi ile bunlardan birinde RIF direncini belirleyen mutasyon saptandı, diğerinde ise MTK DNA'sı saptanmadığı için RIF direnciyle ilişkili mutasyon belirlenemedi. MGIT SIRE yöntemi ile RIF duyarlı olan 94 örnekten 73 (%77.7)'ünde GX testi ile MTK DNA'sı saptandı. Yetmiş üç örneğin birinde (%1.4) RIF direnci belirsiz olup, üçünde (%4.1) RIF direncini belirleyen mutasyon saptandı, geri kalan 69 örnekte (%94.5) RIF direncini belirleyen mutasyon saptanmadı. Her iki testle de RIF duyarlılık sonucu elde edilen örnekler ait sonuçlar Tablo 5'te gösterilmektedir. GX testinin RIF direncini saptamada duyarlılığı %100, özgüllüğü %95.8, PÖD %25 ve NÖD %100 olarak bulundu.

TARTIŞMA

Tüberküloz tanısında yaygın olarak kullanılan konvansiyonel laboratuvar yöntemlerinden direkt mikroskopik inceleme hızlı ve ucuz olmasına karşın, tanıda düşük duyarlılığa sahiptir. Tanıda altın standart olan kültür yöntemi ise zaman alıcı olup, ek biyogüvenlik önlemleriyle eğitilmiş personel gerektirmektedir⁽²⁻⁵⁾. Günümüzde, tedaviye daha erken başlama olanağı, hastalığın bulaşının azalması ve daha etkin halk sağlığı müdahalelerine olanak sağlamak amacıyla moleküler yöntemler, klinik örnekten hızlı tanıyı desteklemek üzere kullanılmaktadır⁽⁷⁾. 2010 yılından itibaren, erişkinler-

de akciğer TB tanısında, 2013 yılından itibaren ise çocuklarda ve akciğer dışı TB'nin bazı özel formlarının tanısında başlangıç testi olarak kullanımı DSÖ tarafından önerilen GX testiyle rpoB geninin MTK spesifik gen bölgesi amplifiye edilerek, hemi-nested gerçek zamanlı-PCR yöntemiyle, klinik örnekte hem MTK varlığı hem de RIF direnci gösterilmekte ve uygulaması kolay olan bu yöntem yaklaşık iki saat içinde sonuç vermektedir^(1,9). Bu çalışmada, rutin inceleme için laboratuvarımıza gönderilen klinik örneklerde, MTK tanısı ve RIF direncinin belirlenmesinde GX testinin etkinliği, boyalı mikroskopik inceleme ve altın standart yöntem olan kültür yöntemleriyle karşılaştırılarak değerlendirilmiştir.

Çalışmamızda, MTK için kültür pozitifliği referans alındığında, tüm örnekler için GX testinin duyarlılığı %74.5, özgüllüğü %99.1 olarak bulundu. Bu alanda yapılan ulusal çalışmalara bakıldığında, Gürsoy ve ark.⁽¹⁰⁾ tarafından GX testinin duyarlılığı %73.3, özgüllüğü %99.3; Özkütük ve ark.⁽¹¹⁾ tarafından GX testinin duyarlılığı %73.9, özgüllüğü %98.6; Zeka ve ark.⁽⁴⁾ tarafından GX testinin duyarlılığı %79.7, özgüllüğü %98.2 olarak çalışmamızdakine benzer şekilde bulunmuş, Albay ve ark.⁽¹²⁾ tarafından, GX testinin duyarlılığı %95, özgüllüğü %99; Çiftçi ve ark.⁽¹³⁾ tarafından GX testinin duyarlılığı %96, özgüllüğü %98 olarak saptanmış, testin duyarlılığı çalışmamızdan daha yüksek bulunmuştur. Albay ve ark.⁽¹²⁾ ile Çiftçi ve ark.⁽¹³⁾ tarafından yapılan çalışmalarda, örnek sayısının çalışmamızdakiyle kıyaslandığında oldukça az olması, iki çalışmada da kültürde MTK üremesi saptanan ve mikroskopik incelemede ARB görülen örnek oranının çalışmamızdan daha yüksek olması, testin duyarlılığının daha yüksek saptanmasına neden olacak etkenlerdir.

Dünyanın birçok bölgesinde yapılmış çalışmalarda, GX testinin tanı performansı açısından oldukça değişken duyarlılık sonuçları elde edilmiştir⁽¹⁴⁻¹⁸⁾. Bu değişkenlik çalışmaya alınan örneklem boyutu, çalışma grubundaki TB insidansı, akciğer ve akciğer dışı örnek türlerinin dağılımı, örnek kalitesi ve çalışmalarda mikroskopik incelemede ARB görülen örnek oranındaki farklara bağlı olmaktadır^(9-11,15-18). Çalışmamızda, GX testinin duyarlılık sonucuna, örneklerin yalnızca %0.8'inin mikroskopik incelemesinde ARB görülmesi ve örnek grubunun büyük kısmının akciğer dışı örneklerden oluşmasının etki etmiş olduğu düşünülmektedir.

Çalışmamızda, örneklerin %32.4'ü akciğer örneklerinden oluşmaktadır. Akciğer örnekleri için GX testinin duyarlılığı %82.7, özgüllüğü %98.7 bulundu. Aralarında meta-analizlerin de bulunduğu dünyada yapılan çeşitli çalışmalarda, akciğer örneklerinde GX testinin duyarlılığı %58-100, özgüllüğü %86-100 arasında geniş bir yelpazede dağılmaktadır^(5,16,19,20).

Çalışmalarda, duyarlılık sonuçlarının değişkenlik göstermesinin akciğer örneklerinin de türü ve dağılımı arasındaki farklılıktan kaynaklandığı bildirilmektedir. Çalışmamızdaki 1361 akciğer örneğinin 498'i balgam, 412'si BL, 202'si BAL, 165'i AMS ve 84'ü TS örneğidir. Çalışmamızda, solunum yolu örnek türlerinde GX testinin duyarlılığı, balgamda %84 (21/25) ve BL'de %76.2 (16/21) saptanırken, MTK için kültür pozitifliği saptanan çalışmaya dâhil az sayıdaki (üçer örnek) BAL ve TS örneklerinin hepsinde GX testi pozitif bulunmuştur. Sharma ve ark.⁽²⁰⁾ tarafından yapılan çalışmada, GX testinin farklı akciğer örneklerindeki tanı performansı araştırılmış ve bronşial yıkama, öksürükle çıkarılan balgam, BAL, endotrakeal aspirat ve indüklenmiş balgam örneklerinde testin duyarlılığı sırasıyla %100 (2/2), %96.9 (380/392), %90 (18/20), %87.5 (14/16) ve %84.2 (16/19) olarak bulunmuş, öksürükle çıkarılan balgam örneklerinde duyarlılığın daha yüksek olduğu bildirilmiş fakat bronşiyal yıkama ve indüklenmiş balgam örneklerinin sayısının azlığından dolayı bu örneklerde testin tanı değeri tam olarak yorumlanamamıştır. Parcell ve ark.⁽¹⁹⁾ tarafından akciğer örnekleriyle yapılan bir çalışmada, testin

duyarlılığı balgam örneklerinde %95.3 ve BAL örneklerinde %100 olarak bulunmuştur. Çalışmamızda, BAL örneklerinde elde edilen duyarlılık sonuçlarının bahsi geçen çalışmalara uyumlu olduğu, balgam örneklerinde ise GX testinin duyarlılığının, Sharma ve ark.⁽²⁰⁾ ile Parcell ve ark.⁽¹⁹⁾ tarafından yapılan çalışmalara göre düşük olduğu gözlenmektedir. Çalışmamızda kültürde MTK üremesi saptanıp GX testi ile MTK DNA'sı saptanmayan balgam örneklerinin tümü ARB negatif örneklerdi. Bu örneklerde düşük basil yükü, yalancı negatif sonuçlara yol açarak testin duyarlılığına etki etmiş olabilir. Geleta ve ark.'nın⁽²¹⁾ yaptığı bir çalışmada, balgam örneklerinde GX testinin duyarlılığı %65.5 olarak çalışmamızdakinden düşük bulunmuş ve düşük duyarlılığa çalışma dizaynı, metodolojik farklılıklar ve ARB negatif örneklerdeki olası PCR inhibisyonu veya yetersiz nükleik asit içeriğinin neden olabileceğinden bahsedilmiştir.

Çalışmamızda, akciğer dışı örnekler, tüm örneklerin %67.6'sını oluşturmaktadır. Çalışmamızda, akciğer dışı örnekler için GX testinin duyarlılığı %67.2 ve özgüllüğü %99.3 olarak bulunmuş, bu değerlerin ülkemizde yapılan benzer çalışmalar ile uyumlu olduğu görülmüştür^(10,11). Kohli ve ark.⁽¹⁵⁾ tarafından 66 çalışmanın değerlendirildiği bir meta-analizde, akciğer dışı örneklerde GX testinin havuzlanmış duyarlılığının farklı örnek türlerinde %31-97 arasında, havuzlanmış özgüllüğünün ise %82-99 arasında değiştiği belirtilmiştir. Akciğer dışı örneklerde GX testinin duyarlılığının çalışılan örnek türlerinin oldukça çeşitli olmasına, örnekteki mikobakteriyel yükü yansıtan yayma durumuna, örneklem boyutuna, çalışılan hasta grubuna ve örnek işleme prosedürüne bağlı değişkenlik gösterdiği düşünülmektedir. Li ve ark.⁽¹⁴⁾ tarafından 106 çalışmanın incelendiği bir meta-analizde, çalışmamızdakine benzer olarak testin duyarlılığının akciğer örneklerinde akciğer dışı örneklere göre yüksek bulunduğu vurgulanması bu testin akciğer örnekleri için daha uygun olduğunu düşündürmektedir. Düşük duyarlılık, özellikle ARB negatif bulunan örneklerde akciğer dışı TB tanısını dışlamada testin kullanımını kısıtlamaktadır^(15,18).

Çalışmamızdaki 2.838 akciğer dışı örneğin, 590'ı plevra sıvısı, 458'i BOS, 136'sı periton sıvısı, 98'i eklem sıvısı ve 77'si perikard sıvısı olmak üzere 1359'u steril vücut sıvısı, 771'i doku (633'ü doku biyopsisi, 132'si lenf nodu biyopsisi ve 6'sı plevral biyopsi), 305'i abse ve aspirasyon materyali, 234'ü idrar, 56'sı kemik iliği, 53'ü kan ve 60'ı diğer örneklerden oluşmaktadır. Çalışmamızda, akciğer dışı örnek türlerinde GX testinin duyarlılığı; abse-aspirasyon materyallerinde %94.7 (18/19), doku biyopsisinde %63.6 (7/11) ve lenf nodu biyopsisinde %33.3 (3/9) olmak üzere tüm doku örneklerinde %50 (10/20) olarak bulunurken, kültürde MTK üremesi saptanan dokuz BOS örneğinin altısında, beş plevra sıvısının ikisinde, bir idrar ve bir kan örneğinde GX testi ile pozitiflik saptanmıştır. Ancak kültürde MTK üremesi bulunan bir periton sıvısı ve bir kemik iliği örneklerinde ise pozitiflik saptanmamıştır. Tadesse ve ark.⁽²²⁾ tarafından 572 akciğer dışı örnekle yapılan bir çalışmada, kültür referans alındığında GX testinin duyarlılığı; lenf nodu örneklerinde %94.4, BOS örneklerinde %75, plevral sıvı örneklerinde %69, peritoneal sıvı örneklerinde %71 ve toplamda %91 olarak çalışmamızdan yüksek bulunmuştur. Laboratuvarımızda TB tanı testlerinin genellikle tarama amacıyla istenmesine karşın konusu geçen çalışmada, hasta grubunun özellikle TB şüpheli hastalardan seçilmesi ayrıca kültür pozitifliği (%39.5) ile ARB pozitifliği (%20.9) oranlarının çalışmamızdan oldukça yüksek olması duyarlılık sonuçlarındaki farklılığı açıklayabilir. Huo ve ark.⁽²³⁾ tarafından 23 çalışma dâhil edilerek plevral sıvı örneklerinde GX testinin uygunluğunun değerlendirildiği bir meta-analizde; testin duyarlılığı %30 olarak çalışmamıza benzer şekilde düşük bulunmuştur. Aynı meta-analizde; GX testinin plevral sıvı örneklerinde düşük duyarlılığının PCR inhibisyonu ve uygunsuz veya yetersiz örnekleme yöntemlerinden kaynaklanabileceği belirtilmiş, testin TB tanısını dışlamada değerinin düşük olduğundan sözsedilmiştir⁽²³⁾. Mazzola ve ark.⁽²⁴⁾ tarafından yapılan çalışmada, akciğer dışı örneklerde altın standart olarak klinik tanı temel alınarak GX testinin duyarlılığı; BOS örneklerinde %100, biyopsi örneklerinde %83.6 ve BOS dışı kaviter sıvı örneklerinde %53.6 olarak çalışmamızdan

yüksek bulunmuş; püy örneklerinde %95.6 ve plevral sıvı örneklerinde ise %38 olarak çalışmamızdakine benzer saptanmıştır. Çalışmamızda, doku örneklerinde duyarlılığın düşük olması, örnek homojenizasyonunun tam olarak sağlanamamasından ve örnek içeriğinden kaynaklı olası PCR inhibisyonundan kaynaklanmış olabilir. Çalışmamızda, kültürde MTK üremesi saptanan BOS ve diğer steril vücut sıvısı örneklerinin tümünün ARB negatif olması göz önünde bulundurulduğunda, bu örnek türlerinde mikobakteriyel yükün az olmasına bağlı olarak duyarlılığın düşük bulunduğu düşünülebilir. Bununla birlikte, DSÖ özellikle hızlı tanının yaşamsal olacağı TB menenjit kuşku hastalarda BOS örneklerinde GX testinin başlangıç testi olarak tercih edilmesi gerektiğini önermektedir⁽²⁵⁾.

GX testinin değerlendirildiği çalışmalarda elde edilen sonuçlardaki değişkenliğin en önemli nedenlerinden biri çalışılan örneklerin mikroskopi sonuçlarıdır^(14,16,18,25). Çalışmamızda örneklerin %0.8'inde (32/4.199) mikroskopik incelemede ARB görülmüştür. Çalışmamızda, GX testinin ARB pozitif örneklerde duyarlılığı %100 ve özgüllüğü %64.3; ARB negatif örneklerde duyarlılığı %69.6 ve özgüllüğü %99.2 olarak bulundu. GX testinin klinik örnekte analitik saptama sınırı, 131 CFU/mL olarak bildirilmiştir⁽¹⁷⁾. GX testi ile MTK DNA'sının saptanması, örnekteki mikobakteriyel yüke bağlı olup, düşük mikobakteriyel yükü işaret eden ARB negatifliği testin duyarlılığını etkilemektedir. Ayrıca, Özkütük ve ark.⁽¹¹⁾, ARB negatif örneklerde GX testi ile duyarlılığın düşük bulunmasının, sıvı ve katı olmak üzere iki farklı kültür yönteminin birlikte kullanılması ile kültür duyarlılığının artmış olmasına bağlı olabileceğini belirtmiştir.

Çalışmamızda, GX testi ile yalancı pozitif sonuç elde edilen 37 örneğin (%0.9), 17'si akciğer (10 balgam, altı BL, bir TS), 20'si akciğer dışı örneklerden (yedi doku biyopsisi, altı abse/aspirasyon materyali, üç diğer örnekler, iki BOS ve iki idrar) oluşmaktadır. Bu 37 örnek incelendiğinde, 23 örneğin alındığı sırada hastaların TB tanısı nedeniyle anti-TB tedavi aldığı gözlemlenmiş, bu örneklerde tedavi sonrası ölü basil

DNA'sına bağlı GX testi ile MTK DNA'sı saptandığı düşünülmüştür. Ayrıca bu örneklerden beşinde ARB pozitifliği saptanmıştır. Albay ve ark.⁽¹²⁾ tarafından yapılan çalışmada, bir BAL örneğinde ve bir lenf nodu biyopsisinde GX testi ile yalancı pozitif sonuç elde edilmiş; BAL örneği araştırıldığında, hastanın geçmişinde TB öyküsü olduğu, ancak uzun süredir ilaç tedavisi almadığı ve klinik iyileşmenin sağlandığı öğrenilmiştir. Dolayısı ile bu pozitifliğin ölü basil DNA'sına bağlı olabileceği düşünülmüştür. Özkütük ve ark.⁽¹¹⁾ tarafından yapılan çalışmada, GX testi ile 34 örnekte (%1.3) yalancı pozitiflik saptanmış, yalancı pozitif örneklerin ait olduğu hastalar araştırıldığında, 20'sinin daha önceki örneklerinde kültürde üreme olduğu, TB tanısı ile anti-TB tedavi aldığı saptanmıştır. Chang ve ark.⁽¹⁷⁾ tarafından 15 çalışmanın değerlendirildiği meta-analiz sonuçlarına göre GX testinin yalancı pozitiflik oranı %1.6 olarak belirlenmiş ve yalancı pozitifliğin TB öyküsü olan hastalarda ölü basil DNA'sına veya subklinik relapsa bağlı olabileceği belirtilmiştir. Theron ve ark.⁽²⁶⁾ tarafından yapılan çalışmada, yalancı pozitifliğin daha çok TB tanısı ve tedavi öyküsü olan olgularda olduğu ve düşük mikobakteriyel DNA yüküyle ilgili olduğu belirtilmiş ayrıca testin canlı basiller dışında ölü basillere ait DNA'yı da saptadığına dikkat çekilmiştir. Bununla birlikte, Hilleman ve ark.⁽²⁷⁾, GX sisteminde kapalı reaksiyon ortamına bağlı olarak kontaminasyon riski düşük olmasına rağmen, kontaminasyonun da yalancı pozitifliğin nedeni olabileceğini belirtmiştir.

Çalışmamızda, GX testi ile yalancı negatif sonuç elde edilen 28 örneğin dokuzu (%25.5) akciğer (beş BL, dört balgam), 19'u akciğer dışı örneklerden (altı lenf nodu, dört doku biyopsisi, üç plevra sıvısı, üç BOS, bir periton sıvısı, bir abse/aspirasyon materyali, bir kemik iliği) oluşmaktadır. Bu örneklerin tamamında düşük mikobakteriyel yükün göstergesi olarak ARB negatifliğinin var olmasının yanı sıra özellikle doku örneklerinde homojenizasyonun istenilen düzeyde sağlanamamış olması, GX testinin yalancı negatif sonuç vermesine neden olmuş olabilir. Chang ve ark. tarafından yapılan meta-analizde GX testinin yalancı negatiflik oranı %9.6 olarak belirlenmiş, kültür ile

örneklerdeki 10-100 basil/mL kadar az miktardaki mikroorganizmanın saptanabilmesi ve GX testinin saptama alt sınırınının 131 CFU/mL olması nedeniyle yalancı negatif sonuçların ortaya çıkabileceği belirtilmiştir⁽¹⁷⁾.

Çalışmamızda, MTK için kültür pozitifliği referans alınarak GX testi ve mikroskopik incelemenin duyarlılıkları sırasıyla, tüm örneklerde %74.5 ve %16.4; akciğer örneklerinde %82.7 ve %28.8; akciğer dışı örneklerde %67.2 ve %5.2 olarak bulundu. İki testin de özgüllüğü yüksek bulundu. Tüm örneklerde, akciğer ile akciğer dışı örneklerde GX testi ile mikroskopik incelemenin duyarlılıkları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0.001$). Neticede, kültürde MTK üremesi saptanan 110 örneğin 92'sinde ARB görülmele birlikte GX testi ile bu örneklerin 64'ünde (%69.6) MTK DNA'sı saptanarak hızlı tanı olanağı sağlanmıştır.

Doğrudan klinik örnekten RIF direnci ile ilişkili mutasyonları saptayabilmesi, GX testinin önemli bir avantajıdır. RIF dirençli suşların %90-95'inde rifampisin direncini belirleyici bölge (RRDR; rifampicin resistance determining region) olarak bilinen rpoB geninin 81 baz çiftlik bölgesinde mutasyon gözlenmesi, duyarlı izolatlarda ise bu mutasyonun olmaması nedeniyle RIF, moleküler İDT için ideal hedeftir. RIF dirençli izolatlar aynı zamanda %85-90 izoniazid (INH) dirençli olduğundan, RIF direnci ÇİD-TB tanısı için bir marker olarak kullanılabilir⁽²⁾. Çalışmamızda, GX testinin RIF direncini saptamada duyarlılığı %100, özgüllüğü %95.8, PÖD %25 ve NÖD %100 bulundu. Steingart ve ark.⁽¹⁶⁾ tarafından yapılan meta-analizde, GX testinin RIF direncini saptamada duyarlılığı %33-100, özgüllüğü %83-100 arasında değişirken, toplam duyarlılık %95, özgüllük %98 olarak hesaplanmış ve testin yalancı dirençli ve yalancı duyarlı sonuçlara neden olabileceği belirtilmiştir. Boehme ve ark.⁽²⁸⁾ tarafından yapılan çalışmada, GX testinin RIF direncini saptamasında çalışmamızla benzer sonuçlar elde edilmiş, testin düşük PÖD'ye sahip olması nedeniyle özellikle ÇİD-TB prevalansının düşük olduğu bölgelerde konvansiyonel yöntemlerle

doğrulama testi yapılmasının gerekli olduğu üzerinde durulmuştur. Rahman ve ark.⁽²⁹⁾ tarafından 92 balgam örneğiyle yapılan çalışmada GX testi ile fenotipik İDT sonuçları arasında çalışmamızla benzer olarak %93.5 uyum bulunmuş, fenotipik ve moleküler İDT arasındaki uyumsuzluğun moleküler yöntemlerle olguların daha dirençli saptanmasına bağlı olarak ortaya çıktığı belirtilmiştir. Buna neden olarak, moleküler yöntemlerin fenotipik İDT'yi etkilemeyen sessiz mutasyonları saptayabilmesi ve GX testinin döngü eşiği "cycle threshold" (Ct) değerleri arasındaki farkı temel alarak dirençli öngören kantitatif bir yöntem olmasından dolayı bu testle kalitatif yöntemlerden daha değişken sonuçlar elde edilebileceği bildirilmiştir⁽²⁹⁾. Bunsow ve ark.⁽⁵⁾ tarafından yapılan çalışmada, çalışmamızdakine benzer sonuçlar elde edilmiş, yalnızca dirençli sonuçların (3/8) fenotipik İDT ile ilişkili olmayan kodon 514'teki sessiz mutasyona bağlı olabileceği düşünülmüş ve örneklerin birinde mutasyon saptanmıştır. Çalışmamızda, GX testi ile yalnızca dirençli bulunan örnekler dizi analizi yapılamadığı için uyumsuzluğun nedeni tam olarak ortaya çıkarılamamıştır. Çalışmamızda, GX testinin RIF direncini saptamadaki performansı hesaplanırken örnek sayısının az olması ve testlerden birinde RIF duyarlılığı sonucunun mevcut olmadığı durumlarda örneklerin ileri analizinin yapılamaması çalışmamızın en büyük kısıtlılığıdır.

Sonuç olarak, GX testinin mikroskopik incelemede, ARB görülen örneklerde TB tanısında güvenilir bir yöntem olduğu, özellikle solunum yolu dışı örnekler olmak üzere az sayıda basil içeren mikroskopik incelemede ARB görülmeyen örneklerde ise duyarlılığının daha düşük olduğu belirlenmiştir. Testin kolay uygulanabilirliği ve çok fazla deneyim gerektirmemesi, iki saat gibi kısa bir sürede doğrudan klinik örnekten MTK DNA'sı ve RIF direncini birlikte saptayabilmesi, mikroskopik incelemeye göre duyarlılığının daha yüksek olması göz önünde bulundurulduğunda TB hızlı tanısında oldukça yararlı bir yöntem olduğu düşünülmektedir. Çalışmamızda elde edilen sonuçlar testin kullanımı hususunda DSÖ önerilerini desteklemektedir. Ancak, TB tanısında GX testi daima altın standart kültür yöntemlerini destekleyerek kullanılmalıdır.

KAYNAKLAR

1. WHO. Global tuberculosis report, 2018. Geneva: World Health Organization; 2018. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
2. Ahmad S, Mokaddas E. Recent advances in the diagnosis and treatment of multidrug-resistant tuberculosis. *Respir Med*. 2009;103(12):1777-90. <https://doi.org/10.1016/j.rmed.2009.07.010>
3. TC Sağlık Bakanlığı Türkiye Halk Sağlığı Kurumu Başkanlığı Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarları Daire Başkanlığı. Ulusal Mikrobiyoloji Standartları. Ulusal Tüberküloz Tanı Rehberi (UTTR). Aydoğdu Ofset Matbaacılık. Ankara, 2014.
4. Zeka AN, Tasbakan S, Cavusoglu C. Evaluation of the GeneXpert MTB/RIF assay for rapid diagnosis of tuberculosis and detection of rifampin resistance in pulmonary and extrapulmonary specimens. *J Clin Microbiol*. 2011;49(12):4138-41. <https://doi.org/10.1128/JCM.05434-11>
5. 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. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2013.11.012>
6. American Thoracic Society, CDC, Infectious Diseases Society of America. Treatment of tuberculosis. *MMWR Recomm Rep*. 2003;52(RR-11):1-77.
7. CDC. Centers for Disease Control and Prevention, Updated guidelines for the use of nucleic acid amplification tests in the diagnosis of tuberculosis. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2009;58(1):7-10.
8. Telenti A, Imboden P, Marchesi F, et al. Detection of rifampicin-resistance mutations in *Mycobacterium tuberculosis*. *Lancet*. 1993;341(8846):647-50. [https://doi.org/10.1016/0140-6736\(93\)90417-F](https://doi.org/10.1016/0140-6736(93)90417-F)
9. 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. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa0907847>
10. Gürsoy NC, Yakupoğulları Y, Tekerekoğlu MS, Otlu B. Klinik örneklerde *Mycobacterium tuberculosis*'in saptanması ve rifampin direncinin tespitinde Xpert MTB/RIF testinin tanısal performansının değerlendirilmesi. *Mikrobiyol Bul*. 2016;50(2):196-204. <https://doi.org/10.5578/mb.21033>
11. Özkütük N, Sürücüoğlu S. Orta prevalanslı bölgede akciğer ve akciğer dışı tüberküloz tanısında Xpert MTB/RIF testinin değerlendirilmesi. *Mikrobiyol Bul*. 2014;48(2):223-32. <https://doi.org/10.5578/mb.7456>
12. Albay A, Güney M, Tekin K, Kısa Ö, Sığ AK. Pulmoner ve

- ekstrapulmoner örneklerde tüberkülozun erken tanısı ve rifampisin direncinin tespiti için GeneXpert MTB/RIF testinin değerlendirilmesi. *Cukurova Med J.* 2016;41(3): 548-53.
<https://doi.org/10.17826/cukmedj.237514>
13. Çiftçi IH, Aslan MH, Aşık G. Klinik örneklerde *Mycobacterium tuberculosis* varlığının gösterilmesinde Xpert MTB/RIF sonuçlarının değerlendirilmesi *Mikrobiyol Bul.* 2011;45(1):43-7.
 14. Li S, Liu B, Peng M, et al. Diagnostic accuracy of Xpert MTB/RIF for tuberculosis detection in different regions with different endemic burden: A systematic review and meta-analysis. *PLoS One.* 2017;12(7):e0180725.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0180725>
 15. Kohli M, Schiller I, Dendukuri N, et al. Xpert® MTB/RIF assay for extrapulmonary tuberculosis and rifampicin resistance. *Cochrane Database Syst Rev.* 2018;8:CD012768.
<https://doi.org/10.1002/14651858.CD012768.pub2>
 16. Steingart KR, Schiller I, Horne DJ, Pai M, Boehme CC, Dendukuri N. Xpert® MTB/RIF assay for pulmonary tuberculosis and rifampicin resistance in adults. *Cochrane Database Syst Rev.* 2014;(1):CD009593.
<https://doi.org/10.1002/14651858.CD009593.pub3>
 17. 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.
<https://doi.org/10.1016/j.jinf.2012.02.012>
 18. 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.
<https://doi.org/10.1186/s12879-014-0709-7>
 19. Parcell BJ, Jarchow-MacDonald AA, Seagar AL, Laurenson IF, Prescott GJ, Lockhart M. Three year evaluation of Xpert MTB/RIF in a low prevalence tuberculosis setting: A Scottish perspective. *J Infect.* 2017;74(5):466-72.
<https://doi.org/10.1016/j.jinf.2017.02.005>
 20. Sharma SK, Kohli M, Yadav RN, et al. Evaluating the diagnostic accuracy of Xpert MTB/RIF assay in pulmonary tuberculosis. *PLoS One.* 2015;10(10): e0141011.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0141011>
 21. Geleta DA, Megerssa YC, Gudeta AN, Akalu GT, Debele MT, Tulu KD. Xpert MTB/RIF assay for diagnosis of pulmonary tuberculosis in sputum specimens in remote health care facility. *BMC Microbiol.* 2015;15:220.
<https://doi.org/10.1186/s12866-015-0566-6>
 22. Tadesse M, Abebe G, Bekele A, et al. Xpert MTB/RIF assay for the diagnosis of extrapulmonary tuberculosis: a diagnostic evaluation study. *Clin Microbiol Infect.* 2019;25(8):1000-5.
<https://doi.org/10.1016/j.cmi.2018.12.018>
 23. Huo ZY, Peng L. Is Xpert MTB/RIF appropriate for diagnosing tuberculous pleurisy with pleural fluid samples? A systematic review. *BMC Infect Dis.* 2018;18(1):284.
<https://doi.org/10.1186/s12879-018-3196-4>
 24. Mazzola E, Arosio M, Nava A, Fanti D, Gesu G, Farina C. Performance of real-time PCR Xpert® MTB/RIF in diagnosing extrapulmonary tuberculosis. *Infez Med.* 2016;24(4):304-9.
 25. WHO. Automated real-time nucleic acid amplification technology for rapid and simultaneous detection of tuberculosis and rifampicin resistance: Xpert MTB/RIF assay for the diagnosis of pulmonary and extrapulmonary TB in adults and children: Policy Update. Geneva: World Health Organization; 2013.
 26. Theron G, Venter R, Calligaro G, et al. Xpert MTB/RIF results in patients with previous tuberculosis: Can we distinguish true from false positive results? *Clin Infect Dis.* 2016;62(8):995-1001.
<https://doi.org/10.1093/cid/civ1223>
 27. Hillemann D, Rüscher-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>
 28. 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.
[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(11\)60438-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(11)60438-8)
 29. Rahman A, Sahrin M, Afrin S, et al. Comparison of Xpert MTB/RIF Assay and GenoType MTBDRplus DNA probes for detection of mutations associated with rifampicin resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *PLoS One.* 2016;11(4):e0152694.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0152694>