



EUROPEAN RESPIRATORY JOURNAL
ORIGINAL RESEARCH ARTICLE
Y. WANG ET AL.

Rapid quantitative PCR on tongue swabs for pulmonary tuberculosis in adults: a prospective multicentre study

Yilin Wang, Junwei Cui, Yuanyuan Li, Miao Wang, Wenge Han, Aimei Liu, Furong Wang, Rongmei Liu, Shuhui Kang, Jianping Zhang, Sihong Zhu, Zhonghai Lai, Wenlong Guan, Shaomu Zou, Xiangyu Yin, JianZhi Qing, Guilan Mu, Liying Guan, Liang Li and Yu Pang 



YETİŞKİNLERDE PULMONER TÜBERKÜLOZ İÇİN DİL SÜRÜNTÜLERİNDE HIZLI KANTİTATİF PCR: PROSPEKTİF ÇOK MERKEZLİ BİR ÇALIŞMA

BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ GÖĞÜS HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

20.11.2025

MODERATÖR: PROF. DR. ASLI GÖREK DİLEKTAŞLI

HAZIRLAYAN: ARAŞ. GÖR. DR. BEYZA DEDE YALÇINTAŞ

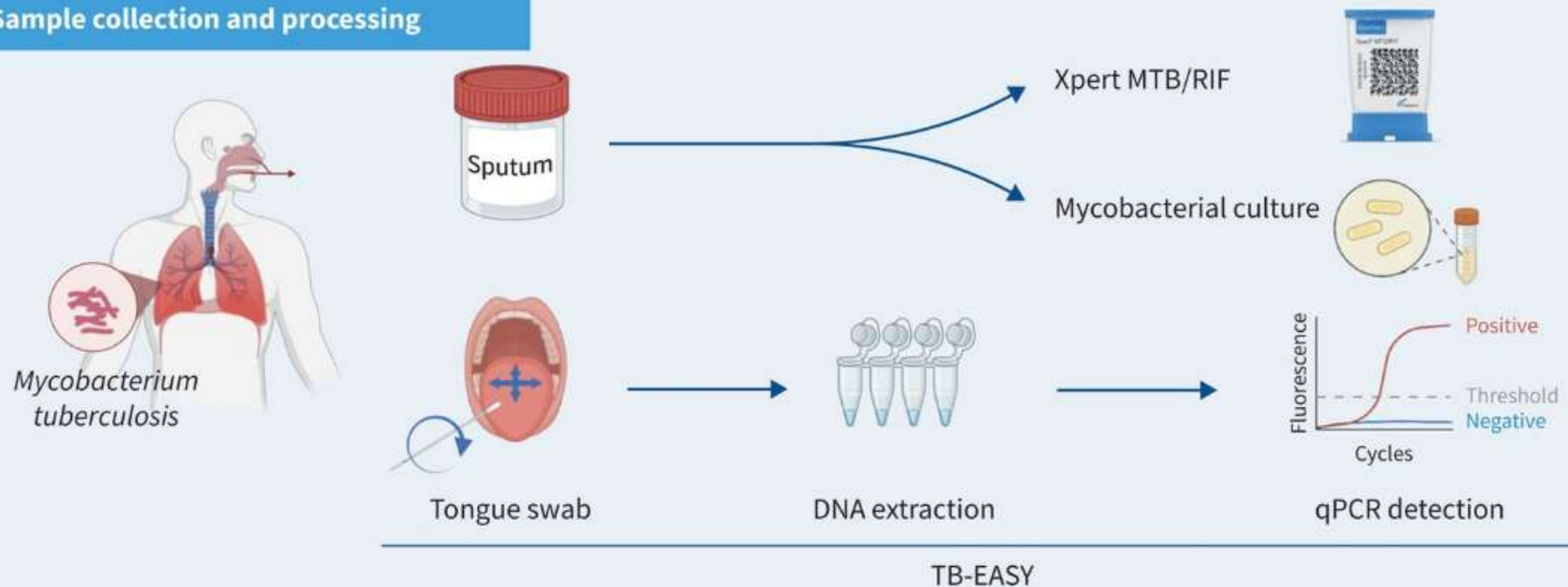
SUNUM PLANI

- GİRİŞ
- YÖNTEM
- SONUÇLAR
- TARTIŞMA

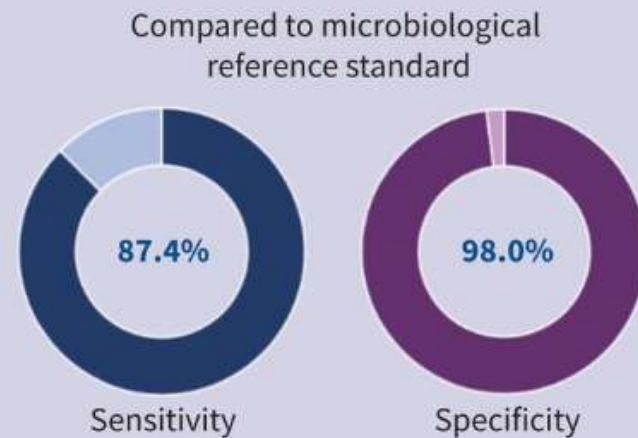
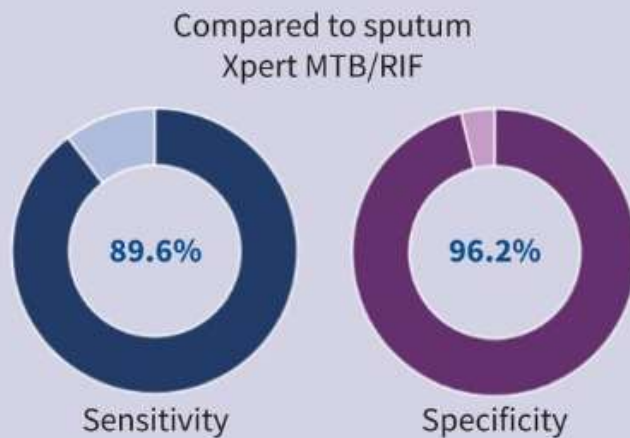


Rapid qPCR on tongue swabs for pulmonary tuberculosis in adults: a prospective multicentre study

Sample collection and processing



TB-EASY efficiency assessment



GİRİŞ

- Tüberküloz,
 - 2022'de tahmini 10,6 milyon vaka
 - 1,3 milyon ölümlle dünya çapında bulaşıcı hastalık ölümlerinin önde gelen nedenlerinden biri olmaya devam etmektedir
- Ancak sadece 7,5 milyon vakaya teşhis konulmuş olup aktif tüberküloz vakalarının nerdeyse üçte biri tespit edilememiştir
- Dünya Sağlık Örgütü Tüberküloz Sona Erdirme Stratejisi 2035 yılına kadar tüberkülozu kaldırmayı hedeflemektedir ve özellikle kaynakların sınırlı olduğu ortamlarda erken teşhisin iyileştirilmesinin acil bir ihtiyaç olduğu vurgulanmaktadır

GİRİŞ

- Mevcut tüberküloz tanıları balgam örneklerine dayanmaktadır
- Akciğer hastalığı olan yetişkinlerin yaklaşık %25'i mikrobiyolojik değerlendirme için yeterli balgam verememektedir
- Balgam mevcut olsa da tanı için altın standart olan kültür yavaş sonuçlanmaktadır
- Moleküler testler daha hızlı ve doğru sonuç vermektedir ancak aerosol bulaş riski taşıyan balgam toplama işlemine bağlıdır

GİRİŞ

- Son yıllardaki büyük ilerlemeye rağmen, mevcut tanı testlerinin çoğu semptomatik bireylerden balgam örneklemesine dayanmaktadır
- Küçük çocuklar ve HIV ile koenfekte olmuş bireyler gibi balgam çıkaramayan popülasyonlarda balgam toplanması zor olup alternatif numunelere ihtiyaç duyulmaktadır
- Balgam toplama işlemi, sağlık çalışanlarının enfeksiyon riskini artıran bulaşıcı aerosol üretme potansiyeline sahiptir
- Geleneksel pasif vaka bulma stratejilerinde devrim yaratmak için daha kolay, daha güvenli ve daha etkili örnekleme yöntemlerine ihtiyaç duyulmaktadır

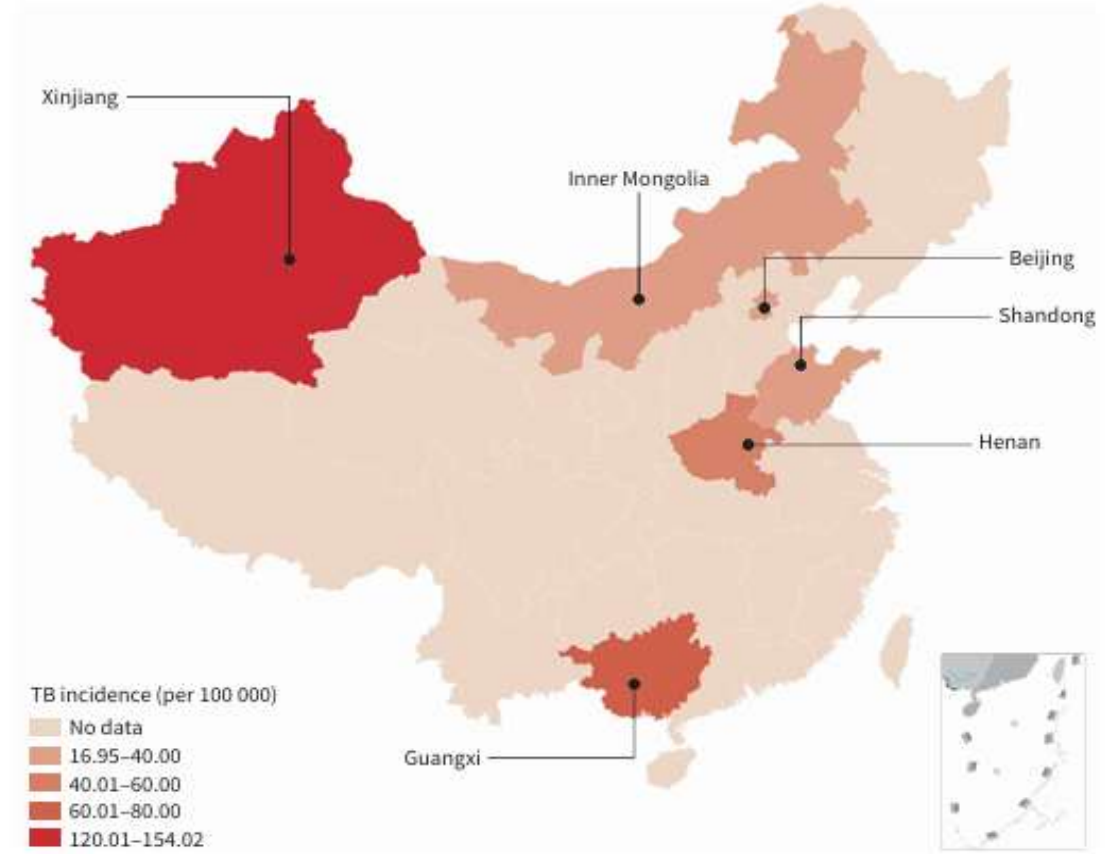
GİRİŞ

- Bu sınırlamalara yanıt olarak, alternatif örneklem türleri araştırılmakta olup umut verici bir seçenek olarak *Mycobacterium tuberculosis kompleksi* (MTBC) DNA'sını tespit ettiği gösterilen dil sürüntülerinin kullanılmasıdır (non invaziv, aerosol üretmez)
- Kantitatif PCR(qPCR) testleri ile dil sürüntüsü örneklerinin tüberküloz tanısı için balgama alternatif olabileceğine dair kanıtlar artmasına rağmen, önceki çalışmalar küçük örneklemeler ve tek merkezli tasarımlarla sınırlı kalmıştır
- Bu sınırlamaları gidermek için pulmoner tüberküloz düşündüren semptomları olan bireylerde yeni bir ticari qPCR testi(TB-EASY) ile dil sürüntü örneklerinin tanısal doğruluğunu araştırmak için prospektif, çok merkezli bir çalışma yürütülmüştür

YÖNTEM

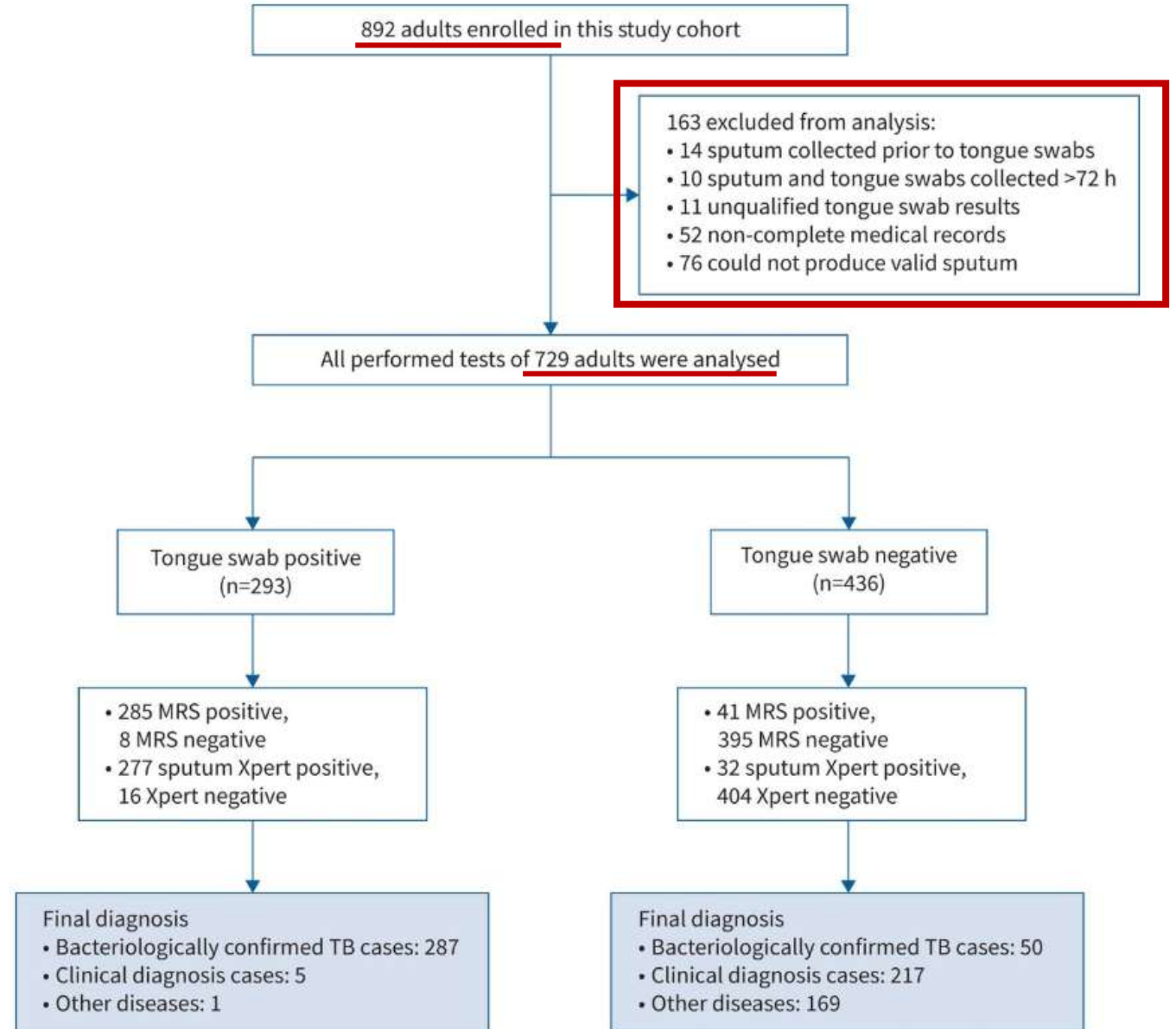
ÇALIŞMA TASARIMI VE KATILIMCILAR

- Eylül 2023- Mart 2024
- Çin’de 6 farklı eyalet
- 7 hastane
- >18 yaş, pulmoner tüberküloz semptomu gösteren kişiler
- 12 ay içinde anti-TB tedavisi almış, son 2 hafta içinde anti-mikobakteriyel antibiyotik almış veya bilgilendirilmiş onam alınamayan kişileri hariç



YÖNTEM

- Çalışma kohortuna 892 kişi katıldı
- 729 kişi analiz edildi



YÖNTEM

ÖRNEK TOPLAMA

- Kayıtlı tüm hastalar için, standart bir form kullanarak ayrıntılı demografik ve klinik öykü alındı
- Dil sürüntü örnekleri sabah en az 30 dk hiçbir şey yiyip içmeden ve ağız hijyeni uygulanmadan önce toplandı
- Toplama işleminden sonra, eğitilmiş hemşireler tarafından sürüntü başlığı 500 µL 1×Tris-EDTA tamponu içeren tüp içine koyuldu
- Aynı gün, Xpert MTB/RIF (Xpert), yayma ve kültür testleri yapmak için dil sürüntü örnekleme sonrasında her katılımcıdan balgam örnekleri alındı

YÖNTEM

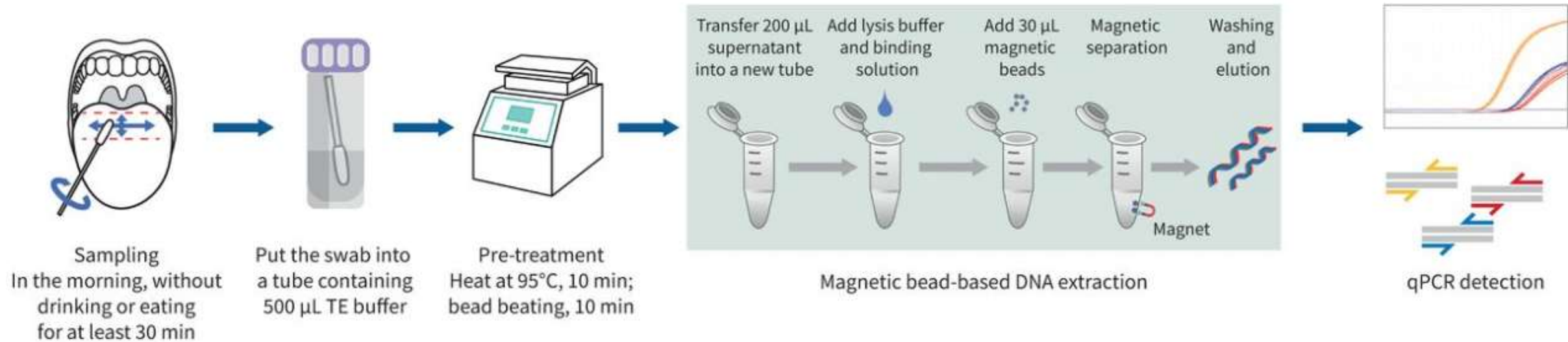
LABORATUAR MİKROBİYOLOJİ TESTLERİ

- Her katılımcıdan 2 mL'den fazla balgam örneği toplandı
- AARB için ışık yayan diyot floresan mikroskobu kullanılarak doğrudan yayma yapıldı
- 1 mL taze balgam örneği, N-asetil-L-sistein-NaOH yöntemi ile 15 dakika süreyle dekontamine edildi ve steril salin fosfat tamponu (PBS, pH 7.0) ile 45 mL'lik bir nihai hacme nötralize edildi
- 3000×g'de 15 dakika santrifüjlemeden sonra, çökeltiler 2 mL PBS tamponunda yeniden süspanse edildi
- 0,5 mL süspansiyon, mikobakteri büyüme indikatörü tüpü (MGIT) sıvı besiyerine aşılandı ve BACTEC MGIT 960 cihazında inkübe edildi. Pozitif kültürler, Ziehl-Neelsen boyaması ile mikobakteri olarak doğrulandı
- MTBC'yi tüberküloz olmayan mikobakterilerden ayırt etmek için ticari bir MPB64 monoklonal antikor testi kullanıldı

YÖNTEM

DİL SÜRÜNTÜ TESTİ

The process of TB-EASY detection. Flowchart for tongue swab collection and *Mycobacterium tuberculosis* complex DNA detection. TE: Tris-EDTA; qPCR: quantitative PCR.



YÖNTEM

REFERANS STANDART TANIMLARI

- Tüberküloz durumunu sınıflandırmak için bileşik mikrobiyolojik referans standardı (MRS) tanımlandı
- MRS pozitif hastaların, balgam Xpert testinde pozitif sonuç (çok düşük, düşük, orta veya yüksek) ve/veya *M. tuberculosis* için pozitif kültür sonucu varsa aktif tüberküloza sahip oldukları kabul edildi
- MRS negatif hastalar, balgam Xpert ve kültür sonuçları negatifse aktif tüberküloz için negatif kabul edildi

YÖNTEM

REFERANS STANDART TANIMLARI

- Dil sürüntüsü TB-EASY testlerini gerçekleştiren teknisyenler, referans standart test sonuçlarından habersizdi
- Dil sürüntüsü sonuçları klinisyenlere verilmedi ve hasta yönetiminde kullanılmadı
- Anti-Tüberküloz tedavisi, tüberküloz tedavisi ile ilgili ulusal kılavuzlar ve WHO kılavuzları uyarınca başlatıldı

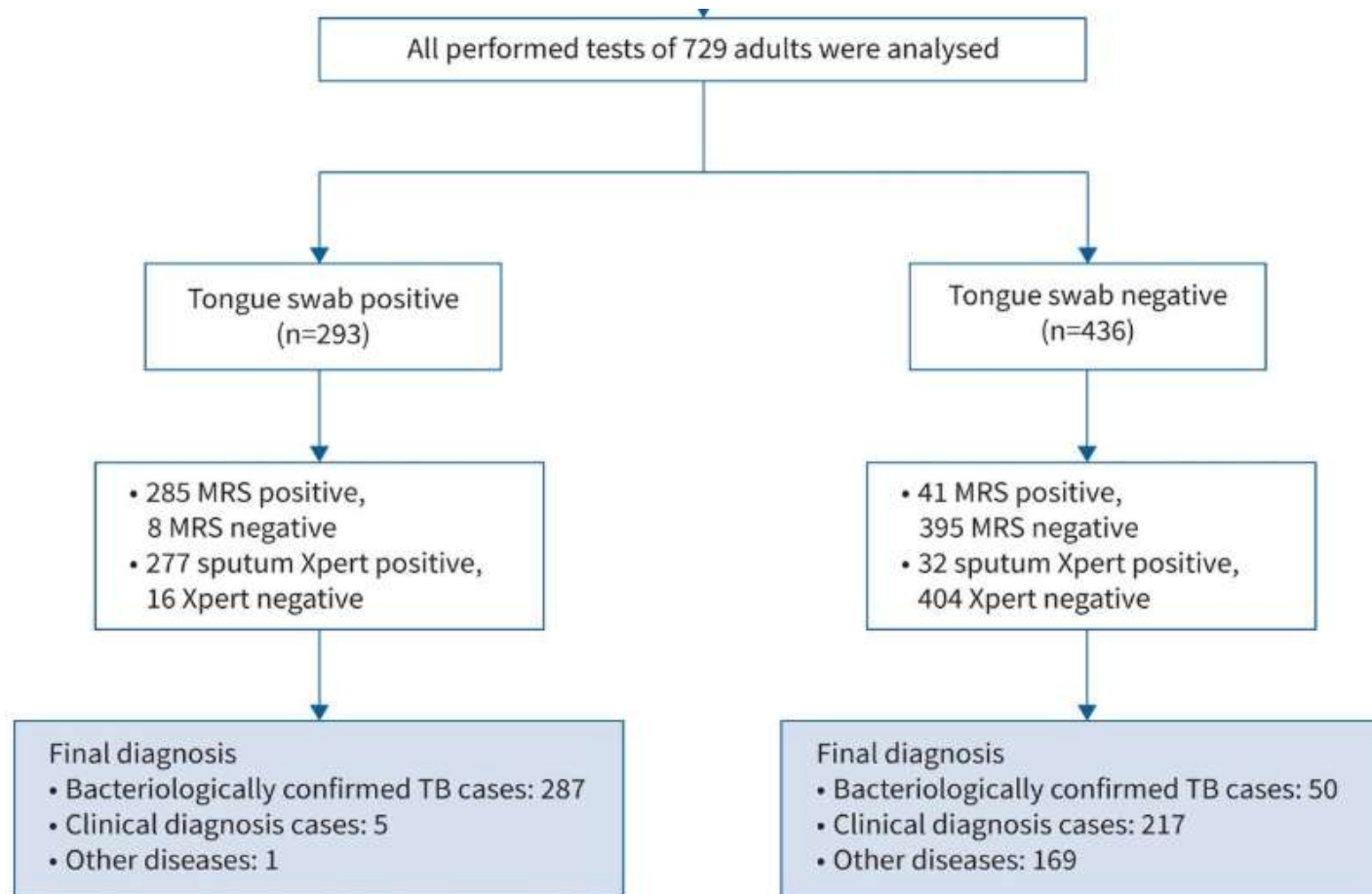
YÖNTEM

İSTATİKSEL ANALİZ

- Demografik ve klinik verileri uygun **tanımlayıcı istatistikler** kullanarak özetlendi
- Dil sürüntü testlerinin balgam MRS, balgam Xpert ve balgam kültürleri ile karşılaştırıldığında **duyarlılık ve özgüllüğünü analiz etmek için McNemar testi** kullanıldı
- Xpert yarı kantitatif kategorilerine göre sınıflandırılan sürüntüler arasındaki farkları değerlendirmek için, farklı hedeflerin ortalama döngü eşik (C_t) değerlerini hesaplamak üzere **Brunner–Munzel analizi** kullanıldı, farklılıklar $p<0,05$ ise anlamlı kabul edildi

SONUÇ

- 729 katılımcıdan 559'una tüberküloz tanısı konuldu
- 559 hastanın sadece %26,8'inin(150) balgam yayması pozitif sonuçlandı



SONUÇ

Characteristics of the study cohort

	Beijing (n=109)	Henan (n=161)	Shandong (n=174)	Guangxi (n=76)	Xinjiang (n=166)	Inner Mongolia (n=43)	Total (n=729)
Age, years	59 (47–69)	57 (41–67)	54 (35.2–66)	65.5 (54–71)	65.5 (49–73)	63 (56.5–74)	60 (45–70)
Sex							
Male	75 (68.8)	109 (67.7)	120 (69.0)	55 (72.4)	83 (50.0)	29 (67.4)	471 (64.6)
Female	34 (31.2)	52 (32.3)	54 (31.0)	21 (27.6)	83 (50.0)	14 (32.6)	258 (35.4)
History of TB	23 (20.9)	23 (14.3)	10 (5.4)	9 (11.0)	21 (12.6)	4 (9.3)	90 (12.3)
Primary disease							
Immunosuppression	9 (8.3)	10 (6.2)	12 (6.9)	1 (1.3)	5 (3.0)	2 (4.7)	39 (5.3)
Diabetes	38 (34.9)	28 (17.4)	18 (10.3)	11 (14.5)	15 (9.0)	15 (34.9)	125 (17.1)
Hepatitis	4 (3.7)	6 (3.7)	8 (4.6)	20 (26.3)	7 (4.2)	19 (44.2)	64 (8.7)
Distribution in diagnostic categories							
Sputum Xpert MTB/RIF positive	77 (70.6)	69 (42.8)	76 (43.6)	30 (39.5)	38 (22.9)	19 (44.2)	309 (42.0)
MRS	82 (75.2)	69 (42.8)	82 (47.1)	34 (44.7)	40 (24.1)	19 (44.2)	326 (44.7)

Data are presented as median (interquartile range) or n (%). TB: tuberculosis; MRS: microbiological reference standard.

SONUÇ

Diagnostic accuracy of tongue swabs compared with sputum Xpert MTB/RIF (Xpert) and the composite microbiological reference standard (MRS)

	Sputum Xpert	MRS
Sensitivity		
n/N	277/309	285/326
% (95% CI)	89.6 (85.6–92.7)	87.4 (83.2–90.7)
Specificity		
n/N	404/420	395/403
% (95% CI)	96.2 (93.8–97.7)	98.0 (96.0–99.1)
Positive predictive value		
n/N	277/293	285/293
% (95% CI)	94.5 (91.1–96.7)	97.3 (94.5–98.7)
Negative predictive value		
n/N	404/436	395/436
% (95% CI)	92.7 (89.7–94.8)	90.6 (87.4–93.1)
Overall concordance		
n/N	681/729	680/729
% (95% CI)	93.4 (91.3–95.0)	93.3 (91.2–94.9)

SONUÇ

- MRS sonuçlarıyla karşılaştırıldığında, TB- EASY'nin duyarlılığı %87,4 ve özgüllüğü %98,0
- Balgam Xpert ile karşılaştırıldığında, TB-EASY'nin duyarlılığı %89,6 ve özgüllüğü %96,2
- TB-EASY ile, balgam Xpert testi negatif çıkan 15 (%17) ek tüberküloz hastası (10'u bakteriyolojik olarak doğrulanmış tüberküloz ve 5'i klinik tüberküloz) tespit edildi

Diagnostic accuracy of tongue swabs compared with sputum Xpert MTB/RIF (Xpert) and the composite microbiological reference standard (MRS)

	Sputum Xpert	MRS
Sensitivity		
n/N	277/309	285/326
% (95% CI)	89.6 (85.6–92.7)	87.4 (83.2–90.7)
Specificity		
n/N	404/420	395/403
% (95% CI)	96.2 (93.8–97.7)	98.0 (96.0–99.1)
Positive predictive value		
n/N	277/293	285/293
% (95% CI)	94.5 (91.1–96.7)	97.3 (94.5–98.7)
Negative predictive value		
n/N	404/436	395/436
% (95% CI)	92.7 (89.7–94.8)	90.6 (87.4–93.1)
Overall concordance		
n/N	681/729	680/729
% (95% CI)	93.4 (91.3–95.0)	93.3 (91.2–94.9)

SONUÇ

- Xpert yarı kantitatif derecesinin daha ayrıntılı incelenmesi, farklı kategoriler arasında uyumda farklılıklar olduğunu ortaya koymuştur:

Sensitivity relative to sputum semiquantitative results

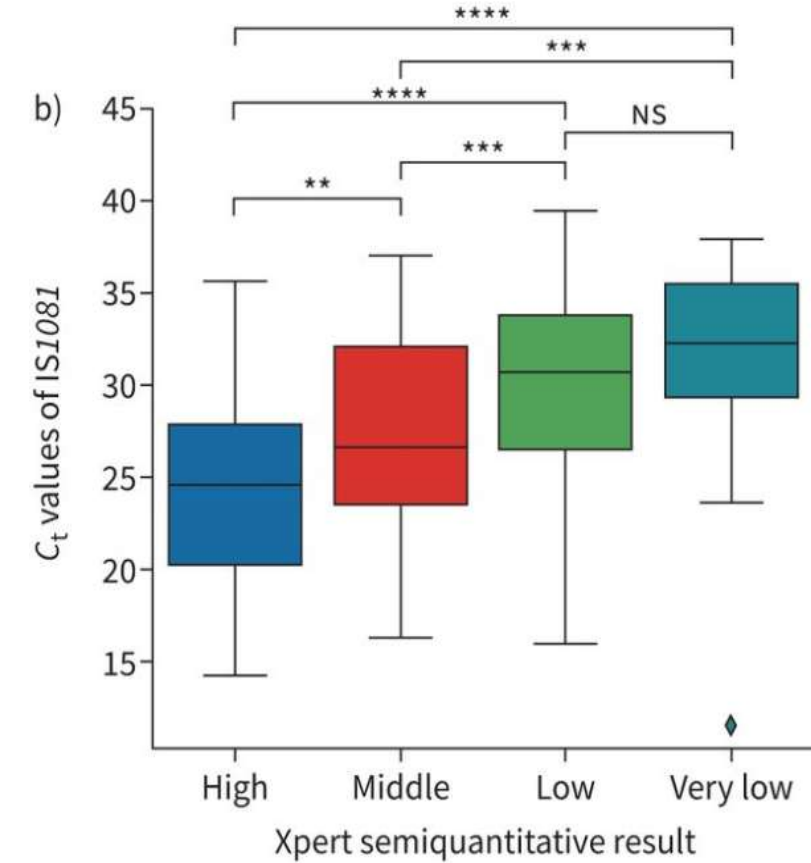
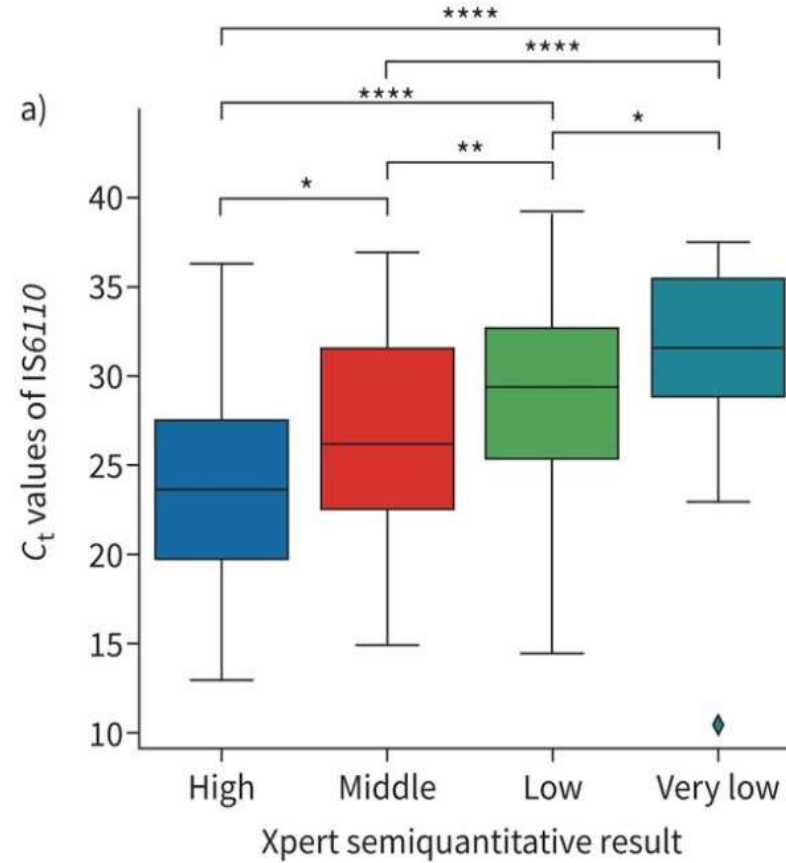
Xpert semiquantitative result	Sputum Xpert	Positive tongue swab results	Agreement, % (95% CI)
High	46	46	100 (92.3–100.0)
Medium	113	110	97.4 (92.3–99.1)
Low	106	90	84.9 (76.9–90.5)
Very low	44	31	70.4 (55.8–81.8)
Negative	420	16	96.2 (93.9–97.6)
Overall concordance			93.4 (91.3–95.0)

Xpert: Xpert MTB/RIF.

SONUÇ

- Hedef genlerin C_t değerlerini analiz ederek dil sürüntü örneklerinde *M. Tuberculosis* ekspresyonu karşılaştırıldı
- Xpert yarı kantitatif kategorilerinde hedef genlerin C_t değerlerinde önemli farklılıklar gözlemlendi ve ekspresyon seviyesi derece seviyesi ile pozitif korelasyon gösterdi

Box-and-whisker plots comparing cycle threshold (C_t) values for a) IS6110 and b) IS1081 across different Xpert MTB/RIF semiquantitative result categories (high, middle, low and very low). Statistical analysis was performed using the Brunner–Munzel test. *: $p<0.05$; **: $p<0.01$; ***: $p<0.001$; ****: $p<0.0001$; NS: not significant.



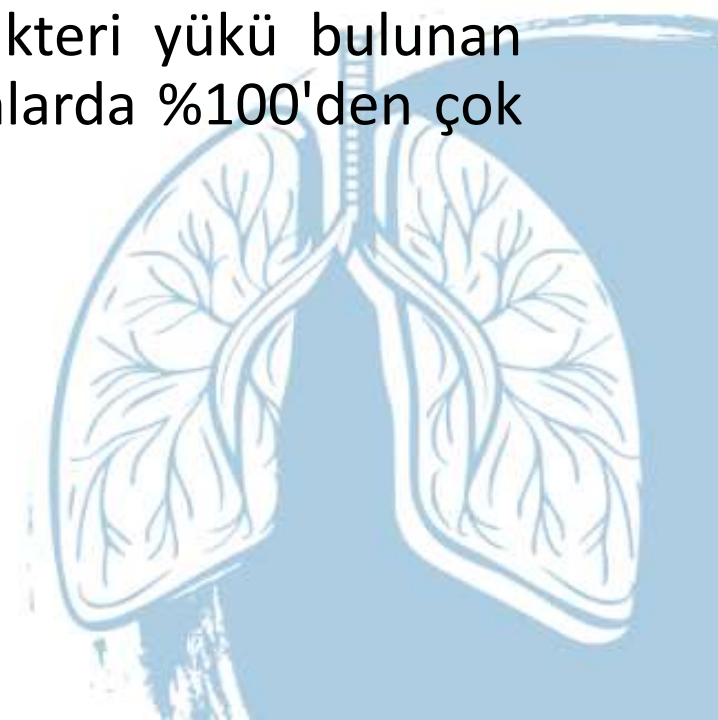
TARTIŞMA

- Tüberküloz tanısı için yüksek doğrulukta, balgam bazlı olmayan bir test önemli bir önceliktir
- Balgam örneklerinin alınması ve işlenmesi, sağlık çalışanları için maruz kalma riski oluşturmakla kalmaz, aynı zamanda aerosol kontrolünün sınırlı olduğu ortamlarda da zorluklar yaratır
- Moleküler test ile dil sürüntüsü, pulmoner tüberküloz tanısı için umut verici bir seçenek sunmaktadır



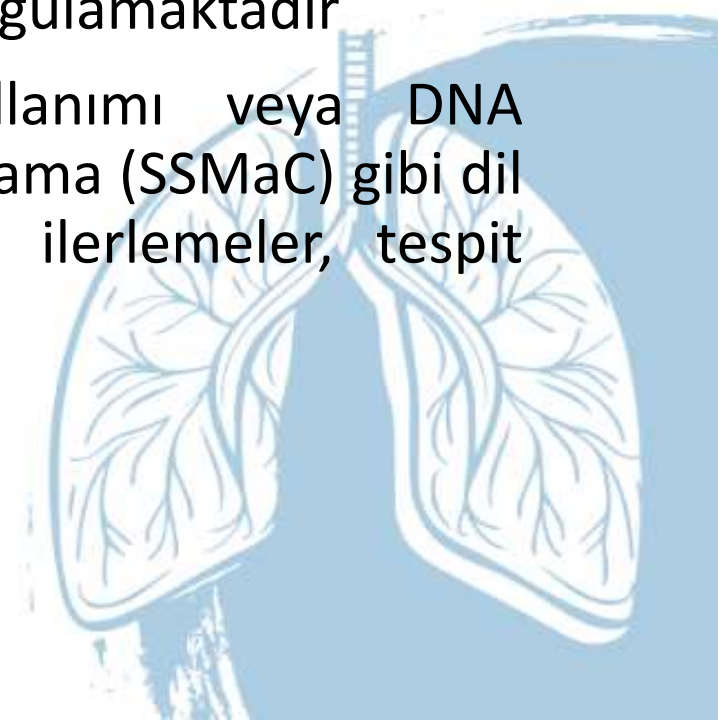
TARTIşMA

- Bu çalışmada, aktif tüberküloz vakalarının tespitini kolaylaştırmak için yüksek hassasiyetli bir dil sürüntüsü qPCR yöntemi geliştirilmiştir
- Çok merkezli bu değerlendirme, bu yöntemin MRS ile karşılaştırıldığında hassasiyetinin %87,4 olduğunu göstermiştir
- Beklendiği gibi, dil sürüntülerinin hassasiyeti, az sayıda bakteri yükü bulunan hastalığı olan yetişkinlerde azalmış, yüksek bakteri yükü olanlarda %100'den çok düşük bakteri yükü olanlarda %70,4'e kadar değişmiştir



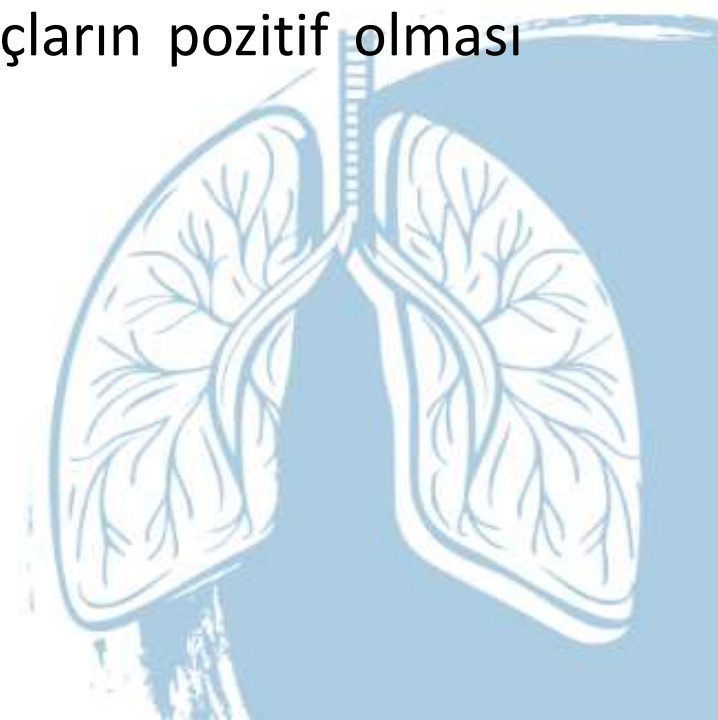
TARTIşMA

- Benzer řekilde, MRS ile karřılařtırıldıđında dil sűrűntűsű qPCR testinin dođruluđuna iliřkin yakın tarihli bařka bir raporda, çok dűřűk bakteri yűkű grubunda %60,0'lık bir tanısal duyarlılık gűzlemlenmiřtir
- Bu bulgular, özellikle dűřűk bakteri yűkű olan hastalarda duyarlılıđı artırmak için dil sűrűntűsű yűntemlerinin optimize edilmesinin önemini vurgulamaktadır
- Bakteriyel DNA'yı konsantre etmek için santrifűj kullanımı veya DNA ekstraksiyonunu geliřtirmek için sekansa zgű manyetik yakalama (SSMaC) gibi dil sűrűntűsű numune iřlemede son zamanlarda kaydedilen ilerlemeler, tespit oranlarını artırmada umut verici olmuřtur



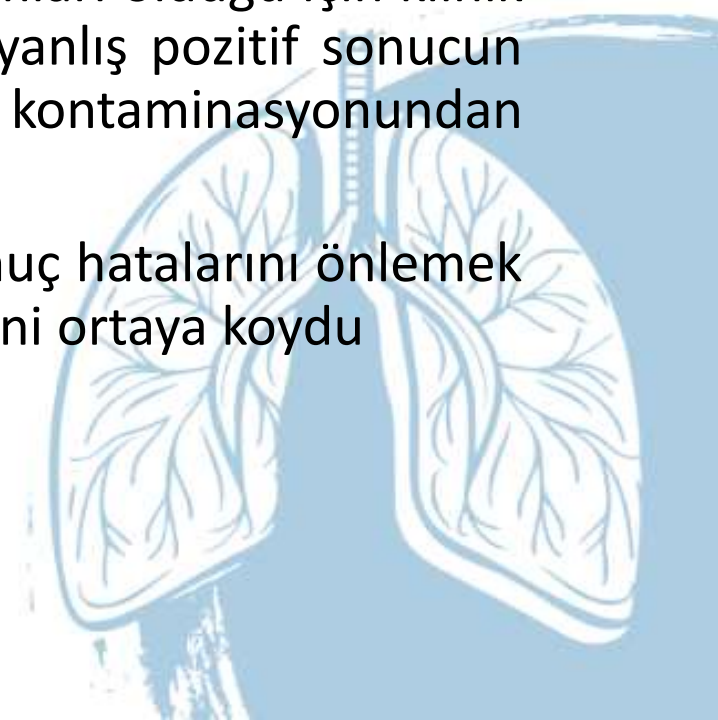
TARTIşMA

- Çalışmamızda, balgam Xpert ve MRS sonuçlarıyla karşılaştırıldığında özgülük sırasıyla %96,2 ve %98,0 idi
- Balgam Xpert sonuçlarıyla karşılaştırıldığında, 16 yanlış pozitif vaka vardı ve bunların 8'i MRS ile karşılaştırıldığında yanlış pozitif olarak kaldı
- Bunlar arasında, bronkoalveolar lavaj sıvısından alınan sonuçların pozitif olması nedeniyle 2 hastaya nihai olarak tüberküloz tanısı konuldu



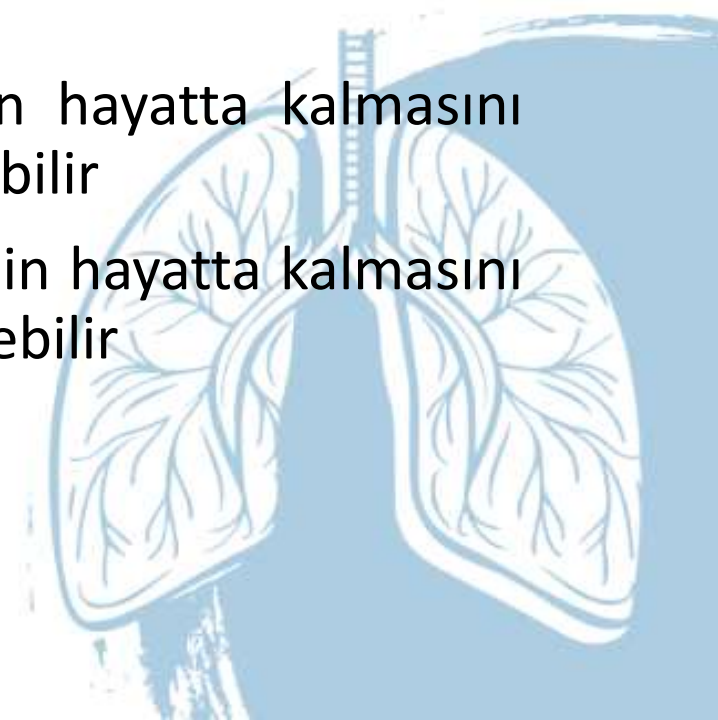
TARTIşMA

- Diğer 5 kişiye ise klinisyenler tarafından klinik semptomlar, tüberkulin deri testi, akciğer radyografisi bulguları ve yardımcı muayene sonuçlarına dayalı olarak klinik olarak pulmoner tüberküloz tanısı konuldu ve hastalar anti-tüberküloz ilaçlarla tedavi edildikten sonra iyileşti ve taburcu edildi
- Kalan 1 hasta, başka kanıt olmaksızın sadece şüpheli klinik semptomları olduğu için klinik olarak pulmoner olmayan tüberküloz enfeksiyonu tanısı aldı. Bu yanlış pozitif sonucun aynı test grubunda DNA ekstraksiyon işlemi sırasında aerosol kontaminasyonundan kaynaklanmış olabileceği düşünöldü
- Bu durum, gelecekteki çabaların manuel işlemde kaynaklanan sonuç hatalarını önlemek için ekstraksiyon sürecini otomatikleştirmeye odaklanması gerektiğini ortaya koydu



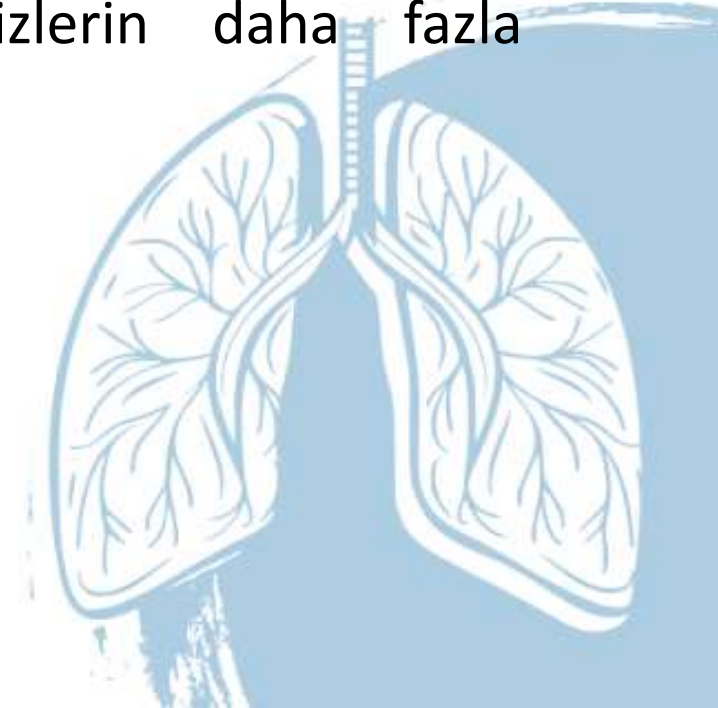
TARTIşMA

- Bulgularımız, balgam Xpert "orta" veya "düşük" sonuçları olan bireylerin küçük bir kısmının qPCR kullanılarak dil sürüntüleri ile tespit edilemediğini ortaya koymuştur
- Kesin nedeni hala belirsiz olsa da, oral mikrobiyom hakkındaki son gelişmeler bu fenomen için olası bir açıklama sağlayabilir
- Oral mikrobiyomun bileşimi, dil üzerinde M. tuberculosis'in hayatta kalmasını desteklemek veya engellemek açısından önemli bir rol oynayabilir
- Birlikte var olan bakteri türleri, mikrobiyotanın diğer üyelerinin hayatta kalmasını etkileyebilir ve ayrıca biyofilm gelişimini ve bakımını düzenleyebilir



TARTIşMA

- Biyofilm oluşumu, bakterilerin dilin sırtına yapışmasında önemli bir rol oynar
- Bu nedenle, dil sürüntüsü sonuçları yanlış negatif çıkan bireylerin oral mikrobiyomunun mikobakteriler için elverişsiz olabileceğini tahmin ediyoruz
- Dil sırtında tüberküloz basili kolonizasyonu üzerinde oral mikrobiyomun rolünü aydınlatmak için metagenomik ve metabolomik analizlerin daha fazla birleştirilmesi gerekmektedir



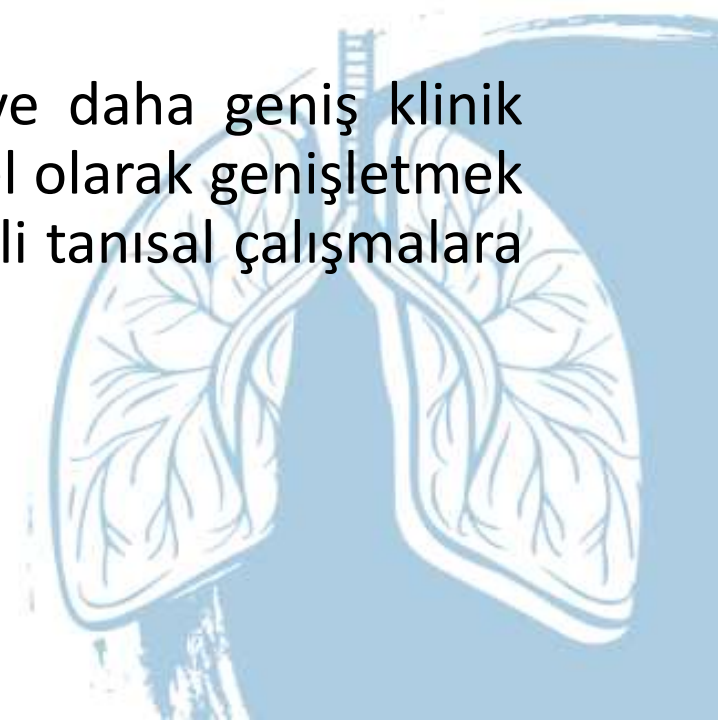
TARTIşMA

- Dil sürüntüleri kullanımı, tüberküloz tanısı için çeşitli avantajlar sunmaktadır
- Öte yandan balgam, pulmoner tüberküloz için en önemli numunedir
- Ancak balgam alınması, bulaşıcı aerosollerin oluşumuna neden olarak enfeksiyon bulaşma riskini artırmaktadır
- Bu bakımdan dil sürüntüleri, alınması daha kolay ve biyogüvenlik açısından daha az endişe yaratan bir alternatif olabilir



TARTIşMA

- Tanı karşılaştırmamızda balgam bazlı testler bileşik referans standardı olarak kullanıldığından, çalışmaya sadece balgam üretebilen hastalar dahil edilmiştir
- Sonuç olarak, balgam negatif veya balgam üretemeyen hastalarda pulmoner tüberkülozu tespit etmek için dil sürüntülerinde TB-EASY qPCR testinin tanısal doğruluğu henüz test edilmemiştir
- Gelecekteki araştırmalar, testin etkinliğini değerlendirmek ve daha geniş klinik ortamlarda tüberküloz tespitinde uygulanabilirliğini potansiyel olarak genişletmek için özellikle bu hasta popölasyonunu hedefleyen çok merkezli tanısal çalışmalara odaklanmalıdır

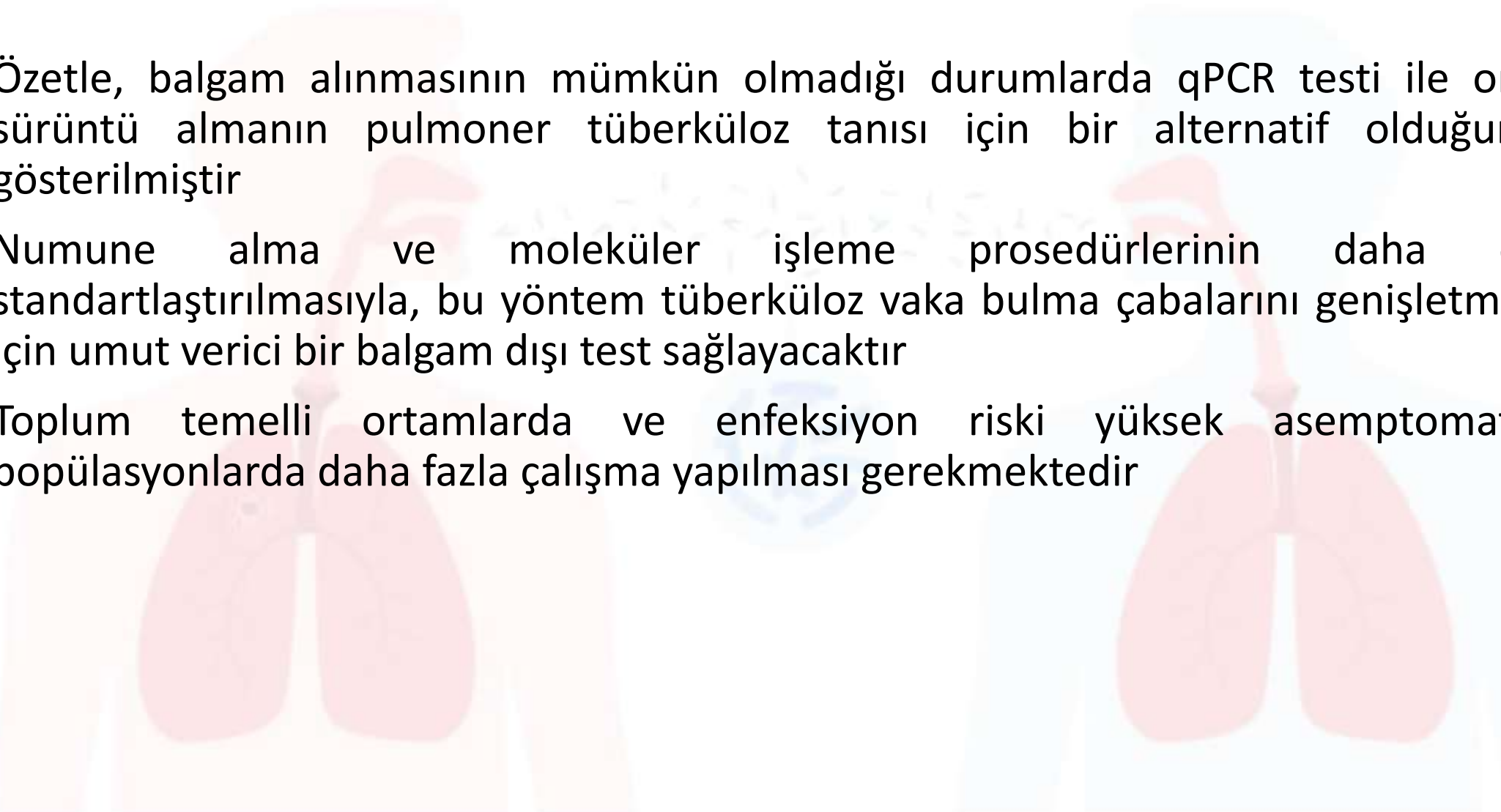


SINIRLILIKLAR

- Katılımcı grubumuz aktif tüberküloz şüphesi olan hastalar arasından seçilmiştir
- Klinik semptomların ortaya çıkması, hastalığın şiddetli olduğunu ve bakteri yükünün yüksek olduğunu gösterir; bu nedenle tüberküloz tarama aracı olarak kullanıldığında duyarlılığı fazla tahmin edilebilir
- Tanı doğruluğunu netleştirmek için, toplum temelli ortamlarda ve enfeksiyon riski yüksek asemptomatik popülasyonlarda acilen daha fazla çalışma yapılması gerekmektedir

SINIRLILIKLAR

- Her testin fiyatı 4-5 ABD dolarıdır, ancak pazar erişiminden sonra büyük ölçekli üretimle maliyet düşürülebilir ve bu da yüksek tüberküloz yüküne sahip düşük ve orta gelirli ülkeler için daha uygulanabilir hâle getirebilir
- Gelecekteki araştırmalar, maliyet-etkinliği değerlendirmeye ve sınırlı kaynaklara sahip ortamlarda daha geniş çapta uygulanabilirliği incelemeye odaklanacaktır

- 
- Özetle, balgam alınmasının mümkün olmadığı durumlarda qPCR testi ile oral sürüntü almanın pulmoner tüberküloz tanısı için bir alternatif olduğunu gösterilmiştir
 - Numune alma ve moleküler işleme prosedürlerinin daha da standartlaştırılmasıyla, bu yöntem tüberküloz vaka bulma çabalarını genişletmek için umut verici bir balgam dışı test sağlayacaktır
 - Toplum temelli ortamlarda ve enfeksiyon riski yüksek asemptomatik popülasyonlarda daha fazla çalışma yapılması gerekmektedir



1881-1938