

LAMPIRAN

Comparative Study of GeneXpert with ZN Stain and Culture in Samples of Suspected Pulmonary Tuberculosis

MONIKA AGRAWAL¹, ASHISH BAJAJ², VINAY BHATIA³, SARJANA DUTT⁴

ABSTRACT

Introduction: Tuberculosis remains one of the deadliest communicable diseases. There are number of tests available for the diagnosis of tuberculosis but conventional microscopy has low sensitivity and culture although gold standard, takes longer time for positivity. On the other side, Nucleic acid amplification techniques due to its rapidity and sensitivity not only help in early diagnosis and management of tuberculosis especially in patients with high clinical suspicion like immunocompromised patients, history of contact with active tuberculosis patient etc., but also curtail the transmission of the disease.

Aim: To evaluate the sensitivity, specificity, positive predictive value and negative predictive value of Nucleic acid amplification assay (GeneXpert) using respiratory samples in patients with suspected pulmonary tuberculosis and compare with AFB smear microscopy (Ziehl Neelsen stain) and Acid Fast Bacilli (AFB) culture.

Materials and Methods: We retrospectively reviewed the respiratory samples of suspected pulmonary tuberculosis (including Bronchoalveolar lavage and sputum) of 170 patients from Jan 2015 to Nov 2015 for ZN stain, culture and GeneXpert (Xpert® MTB/Rif assay). The sensitivity, specificity, PPV and NPV

of GeneXpert and ZN microscopy were calculated using Liquid culture of *Mycobacterium tuberculosis* as gold standard.

Results: A total of 170 patient samples were evaluated in final analysis. Of these, 14 samples were positive by all three methods used in our study. The overall sensitivity, specificity, PPV and NPV of GeneXpert were 86.8%, 93.1%, 78.5% and 96% respectively and for BAL sample, 81.4%, 93.4%, 73.3% and 95.7% respectively. The overall sensitivity and specificity of AFB smear microscopy were 22.2%, and 78.5% respectively and for BAL sample 22.2% and 100% respectively. For AFB negative samples sensitivity and specificity were 79.1% and 93.1% respectively.

Conclusion: GeneXpert has a higher sensitivity than AFB smear microscopy in respiratory samples. GeneXpert can be a useful tool for early diagnosis of patients with high clinical suspicion of pulmonary tuberculosis. Positive GeneXpert, but culture negative results should be read cautiously and be well correlated with clinical and treatment history of the patient. The other major advantage of Gene Xpert is that it simultaneously detects Rifampicin resistance and is especially beneficial in patient with MDR and HIV associated tuberculosis and should be studied further.

Keywords: Acid fast bacilli, Bronchoalveolar lavage, Smear microscopy, Sputum

INTRODUCTION

According to the Global Tuberculosis report 2014 of World Health Organization (WHO), Tuberculosis (TB) remains one of the world's deadliest communicable diseases that is caused by the Bacterium *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) [1]. The disease usually affects the lungs (pulmonary TB) and spread by air transmission from people with pulmonary TB [2]. In 2013, out of the estimated global annual incidence of 9 million TB cases, India alone shares the incidence of 2.1 million (24%) cases/year (one fourth of global incidence) [3].

Early diagnosis is imperative for early patient management and successful patient outcomes. False-negative results and misdiagnosis of TB suspects are common in developing nations, as most TB control programmes use Ziehl-Neelsen (ZN) smear microscopy, which has poor sensitivity and multiple visits are required that leads to higher default. Mycobacterial culture, although considered as the gold standard but is slow and usually takes 2-6 weeks time to yield a final result and requires proper infrastructure and technical expertise [1,4,5].

There are number of Nucleic Acid Amplification (NAA) methods that have been developed for rapid detection and identification of *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) in clinical specimens of pulmonary and extra-pulmonary tuberculosis cases [6-8]. These techniques not only provide the advantage of rapidity of diagnosis but also detect even low MTB genomic copies in various specimens.

More recently, the WHO endorsed the GeneXpert (Xpert® MTB/Rif assay) for the diagnosis of TB [6]. The GeneXpert utilizes a DNA-PCR technique for simultaneous detection of *Mycobacterium tuberculosis* and Rifampicin resistance related mutations. It is the first fully automated bench top cartridge based nucleic acid amplification (CB-NAAT) assay for TB detection that includes all necessary steps of DNA PCR. It gives results within 2 hours. Diagnostic accuracy of GeneXpert for pulmonary TB has been reported high [9,10]. Patients with high risk of tuberculosis like presumptive HIV-associated TB patients and pediatric presumptive including extra pulmonary cases in whom AFB smear examination is usually negative, are the most likely to be benefited from GeneXpert [3,10].

AIM

The aim of this study was to evaluate the sensitivity, specificity, PPV and NPV of GeneXpert assay in patients with smear positive and smear negative respiratory samples (Preferably BAL samples) of suspected pulmonary tuberculosis and compared with AFB smear microscopy (ZN stain) and Liquid AFB culture.

MATERIALS AND METHODS

Inclusion criteria

Patients with clinical suspicion of pulmonary tuberculosis including symptoms of cough with or without expectoration for >2 weeks, weight loss, fatigue, haemoptysis and loss of appetite.



Brief report

Ilhan Afsar
Meryem Gunes
Hakan Er
Asli Gamze Sencer

Comparison of culture, microscopic smear and molecular methods in diagnosis of tuberculosis

Atatürk Training and Research Hospital, Department of Microbiology, Izmir, Turkey

Article history

Received: 11 May 2018; Accepted: 10 July 2018

ABSTRACT

Objectives. Tuberculosis (TB) is a public health problem worldwide, with the highest mortality. The development of nucleic acid-based tests for detection of *Mycobacterium tuberculosis* complex (MTBC) has significantly increased sensitivity compared to conventional smear microscopy and provides results within a matter of hours compared to weeks for solid culture, which is the current gold standard. The aim of this study was to compare the culture, microscopic smear and molecular method in the diagnosis of TB.

Material and methods. Seven hundred ninety specimens belonging to clinically suspected cases of TB were studied retrospectively. The specimens were grouped as respiratory and non-respiratory and the groups were compared for mycobacterial detection assays. The culture and the molecular diagnostic GeneXpert MTB/RIF (GX) assay method were compared.

Results. When culture was used as the reference standard, 32 (4.05%) specimens were positive for MTBC. Of the 32 culture positive clinical specimens 24 (3.03%) were respiratory and 8 (1.01%) were non-respiratory specimens. All 24 of the 24 respiratory specimens were positive by the GX test. Seven of the eight non-respiratory specimens positive for culture were positive by GX assay. Five of the seven hundred fifty-eight samples of culture negative were positive with GX assay. Sensitivity and specificity of GX were found to be 96.8% and 99.3%, respectively.

Conclusions. Molecular methods to acquire time in diagnosis as well as the increase in linearity gives a different perspective to the diagnosis of tuberculosis. The GX assay has a diagnostic utility for rapid diagnosis of TB.

Key Words: Tuberculosis, GeneXpert, Culture, Acid-fast Bacilli

Correspondence:
Ilhan Afsar, MD.
Atatürk Training and Research Hospital, Department of Microbiology, Izmir, Turkey
Tel: 00 90 5326056770
E-mail: iafsar@yahoo.com

Comparación del cultivo, frotis y un método molecular en el diagnóstico de la tuberculosis

RESUMEN

Objetivos. La tuberculosis (TB) es un problema de salud pública a nivel mundial, con la mortalidad más alta. El desarrollo de pruebas basadas en ácido nucleico para la detección de complejo de *Mycobacterium tuberculosis* (MTBC) ha aumentado significativamente la sensibilidad en comparación con la microscopía de frotis convencional y proporciona resultados en cuestión de horas en comparación con semanas para cultivo sólido, que es la prueba de referencia. El objetivo de este estudio fue comparar el cultivo, el frotis microscópico y un método molecular en el diagnóstico de la tuberculosis.

Material y métodos. Se estudiaron retrospectivamente 790 especímenes pertenecientes a casos clínicamente sospechosos de TB. Las muestras se agruparon como respiratorias y no respiratorias y los grupos se compararon para los ensayos de detección de micobacterias. Se comparó el cultivo y el método de análisis molecular GeneXpert MTB / RIF (GX).

Resultados. Cuando se utilizó el cultivo como prueba de referencia, 32 (4,05%) muestras dieron positivo para MTBC. De las 32 muestras clínicas con cultivo positivo, 24 (3,03%) fueron respiratorias y 8 (1,01%) fueron muestras no respiratorias. Todas las 24 muestras respiratorias fueron positivas mediante la prueba GX. Siete de las ocho muestras no respiratorias positivas para cultivo fueron positivas mediante la prueba GX. Cinco de las setecientas cincuenta y ocho muestras del cultivo negativo fueron positivas con la prueba GX. La sensibilidad y la especificidad de GX fueron del 96,8% y 99,3%, respectivamente.

Conclusiones. Los métodos moleculares para ganar tiempo en el diagnóstico así como el aumento en la linealidad dan una perspectiva diferente al diagnóstico de tuberculosis. La prueba GX tiene una utilidad diagnóstica para el diagnóstico rápido de la tuberculosis.

Palabras Claves: Tuberculosis, GeneXpert, cultivo, bacilos ácido-alcohol resistentes

Artikel Penelitian

Evaluasi Metode *GeneXpert MTB/RIF* dengan Sampel *Raw Sputum* untuk Mendeteksi Tuberkulosis Paru

Evaluation of GeneXpert MTB/RIF Method Using Raw Sputum Samples for Detecting Pulmonary Tuberculosis

Tri Nugraha Susilawati^{a*}, Leli Saptawati^a, Kusmadewi Eka Damayanti^b, Riska Larasati^c

^aLaboratorium Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Sebelas Maret, Surakarta, Jawa Tengah, Indonesia

^bLaboratorium Gizi, Fakultas Kedokteran, Universitas Sebelas Maret, Surakarta, Jawa Tengah, Indonesia

^cProgram Studi Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Sebelas Maret, Surakarta, Jawa Tengah, Indonesia

ABSTRAK

Tuberkulosis (TB) merupakan penyakit menular yang masih menjadi masalah utama di Indonesia dan dunia. Tantangan utama dalam mendiagnosis TB secara konvensional yaitu rendahnya sensitivitas deteksi pada pemeriksaan mikroskopis dan lamanya waktu yang diperlukan untuk kultur. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi metode *GeneXpert MTB/RIF* untuk mendeteksi *Mycobacterium tuberculosis* dengan sampel dahak langsung di RSUD Dr. Moewardi (RSDM), Surakarta. Analisis observasional dengan pendekatan kohort retrospektif menggunakan data sekunder hasil pemeriksaan *GeneXpert MTB/RIF* pada sampel dahak langsung di Laboratorium Mikrobiologi Klinik RSDM pada tahun 2012-2015. Sampel didapatkan dari pasien yang memenuhi kriteria suspek multidrug-resistant tuberculosis (MDR-TB) dan sampel tersebut telah dikultur di Balai Laboratorium Kesehatan (BLK), Jawa Tengah. Data dianalisis dengan OpenEpi versi 3, Epi Info 7, dan MedCalc. Pada penelitian ini didapatkan sensitivitas, spesifisitas, nilai duga positif dan negatif (NDP dan NDN) serta akurasi metode *GeneXpert MTB/RIF* sebesar 93,62%, 27,17%, 68,89%, 71,21%, dan 69,21%. Prevalensi TB paru pada sampel yang diperiksa sebesar 63,27%. Rendahnya spesifisitas *GeneXpert MTB/RIF* mengindikasikan perlunya kultur sebagai baku emas. Namun demikian, perlu standarisasi pemrosesan sampel dahak dalam segi teknik dan waktu pengambilan sampel disertai data klinis yang memadai untuk melihat riwayat terapi yang telah diberikan pada pasien.

Kata kunci: tuberkulosis; *GeneXpert MTB/RIF*; dahak langsung; kultur

ABSTRACT

Infection with tuberculosis (TB) remains a major problem in Indonesia and globally. Conventional methods of TB diagnosis pose a great challenge due to the low sensitivity of microscopic examination and the time lag for culture. This research aimed to evaluate the use of *GeneXpert MTB/RIF* assay for detecting *Mycobacterium tuberculosis* using raw sputum samples at Dr. Moewardi Hospital (RSDM), Surakarta. This observational analytic research employed cohort retrospective approach to examine secondary data of the results of *GeneXpert MTB/RIF* assay at the Clinical Microbiology Laboratory, RSDM during the period of 2012-2015. The assay examined raw sputum samples of suspected multidrug-resistant tuberculosis (MDR-TB) patients that had been cultured at the Health Laboratory Centre (BLK), Central Java. The data were analyzed using OpenEpi Version 3, Epi Info 7, and MedCalc. The sensitivity, specificity, positive and negative predictive value (PPV and NPV), and accuracy of *GeneXpert MTB/RIF* assay were 93,62%, 27,17%, 68,89%, 71,21%, and 69,21%, respectively. The TB prevalence in the samples analyzed was 63,27%. The low specificity of *GeneXpert MTB/RIF* assay necessitates cultivation as the gold standard for diagnosing TB. Standardization in sample processing, including technical issues and appropriate timing of sample collection, is needed. In addition, adequate clinical data are important for evaluating therapy that has been administered.

Keywords: tuberculosis; *GeneXpert MTB/RIF*; raw sputum; culture

Pendahuluan

Tuberkulosis (TB) merupakan penyakit menular yang disebabkan oleh *Mycobacterium tuberculosis* complex (MTBC).¹ MTBC terdiri dari beberapa spesies seperti *M. tuberculosis*, *M. africanum*, *M. microti* dan *M. bovis*.² Angka kematian akibat TB masih tercatat tinggi karena diagnosis yang terlambat serta sulitnya menekan transmisi sehingga menyebabkan penyebaran kuman terus berlanjut.³ Tantangan utama dalam mendiagnosis TB secara konvensional adalah rendahnya sensitivitas deteksi pada pemeriksaan mikroskopis, yaitu sebesar 20-80%, dan lamanya waktu yang diperlukan untuk mendapatkan hasil kultur.^{3,4} Meskipun merupakan baku emas untuk diagnosis TB, diperlukan 2-8 minggu untuk melakukan kultur dengan infrastruktur yang tepat dan tenaga ahli yang profesional.^{5,6}

GeneXpert MTB/RIF assay (Cepheid, Sunnyvale USA) merupakan metode untuk mendeteksi

M. tuberculosis yang lebih cepat dan praktis dibandingkan kultur.⁷ Metode *GeneXpert MTB/RIF* menggunakan prinsip *quantitative real-time polymerase chain reaction* (qRT-PCR) untuk mendeteksi kuman *M. tuberculosis* sekaligus mendeteksi resistensi rifampisin. Waktu yang diperlukan untuk pemeriksaan dengan metode ini relatif singkat, yaitu kurang dari 2 jam.⁷⁻¹⁰

Terdapat 2 jenis sampel yang dapat dipakai untuk pemeriksaan dengan metode *GeneXpert MTB/RIF*, yaitu *raw sputum* (dahak langsung) dan *pellet sputum*. *Pellet sputum* merupakan sampel dahak yang mengalami pemrosesan lebih lanjut melalui tahap pengenceran, dekontaminasi dengan *N-acetyl-L-cysteine* dan *sodium hydroxide* (NALC/NaOH),

*Korespondensi: Tri Nugraha Susilawati, Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Sebelas Maret, Jawa Tengah 57126, Indonesia.; Email: tri.susilawati@staffuns.ac.id; Telepon: +62 271 632489

RESEARCH ARTICLE

Evaluating the Diagnostic Accuracy of Xpert MTB/RIF Assay in Pulmonary Tuberculosis

Surendra K Sharma^{1*}, Mikashmi Kohli¹, Raj Narayan Yadav¹, Jigyasa Chaubey¹, Dinkar Bhasin¹, Vishnubhatla Sreenivas², Rohini Sharma¹, Binit K Singh¹

1 Department of Internal Medicine, All India Institute of Medical Sciences, New Delhi, India, **2** Department of Biostatistics, All India Institute of Medical Sciences, New Delhi, India

* sksharma.aiims@gmail.com



OPEN ACCESS

Citation: Sharma SK, Kohli M, Yadav RN, Chaubey J, Bhasin D, Sreenivas V, et al. (2015) Evaluating the Diagnostic Accuracy of Xpert MTB/RIF Assay in Pulmonary Tuberculosis. PLoS ONE 10(10): e0141011. doi:10.1371/journal.pone.0141011

Editor: Delia Goletti, National Institute for Infectious Diseases (L. Spallanzani), ITALY

Received: May 23, 2015

Accepted: October 2, 2015

Published: October 23, 2015

Copyright: © 2015 Sharma et al. This is an open access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Data Availability Statement: All relevant data are within the paper.

Funding: The study was supported by J.C. Bose National Fellowship awarded to Prof. SK Sharma (SB/S2/JCB-04/2013), from the Ministry of Science and Technology, Government of India. We are also thankful to the AIIMS administration for providing financial-aid.

Competing Interests: The authors have declared that no competing interests exist.

Abstract

Pulmonary tuberculosis still remains a major communicable disease worldwide. In 2013, 9 million people developed TB and 1.5 million people died from the disease. India constitutes 24% of the total TB burden. Early detection of TB cases is the key to successful treatment and reduction of disease transmission. Xpert MTB/RIF, an automated cartridge-based molecular technique detects *Mycobacterium tuberculosis* and rifampicin resistance within two hours has been endorsed by WHO for rapid diagnosis of TB. Our study is the first study from India with a large sample size to evaluate the performance of Xpert MTB/RIF assay in PTB samples. The test showed an overall sensitivity and specificity of 95.7% (430/449) and 99.3% (984/990) respectively. In smear negative-culture positive cases, the test had a sensitivity of 77.7%. The sensitivity and specificity for detecting rifampicin resistance was 94.5% and 97.7% respectively with respect to culture as reference standard. However, after resolving the discrepant samples with gene sequencing, the sensitivity and specificity rose to 99.0% and 99.3% respectively. Hence, while solid culture still forms the foundation of TB diagnosis, Xpert MTB/RIF proposes to be a strong first line diagnostic tool for pulmonary TB cases.

Introduction

According to the WHO Tuberculosis report, 2014, there were 9 million incident cases of TB globally, and South-East Asia and Western Pacific regions contributed 58% to this burden of TB with India having a share of 24% of the global burden [1]. Pulmonary tuberculosis (PTB) continues to be an important cause of preventable mortality in both developing and developed nations, particularly in the setting of HIV infection. The cornerstone of TB control remains early diagnosis and treatment. However, the emergence of resistant strains, including multi-drug resistant (MDR) and extremely drug resistant (XDR) strains has posed a significant challenge. Though advances in drug therapy have been limited, TB control has greatly benefited from the advent of newer diagnostic tests including use of liquid culture media and nucleic acid amplification tests such as line probe assay and Xpert MTB/RIF. Rapid diagnosis of TB significantly decreases the lag time in initiation of treatment, thereby reducing transmission rates [2].

Evaluation of the GeneXpert MTB/RIF Assay for Rapid Diagnosis of Tuberculosis and Detection of Rifampin Resistance in Pulmonary and Extrapulmonary Specimens[†]

Arzu N. Zeka,¹ Sezai Tasbakan,² and Cengiz Cavusoglu^{3*}

*Infectious Diseases and Clinical Microbiology Department, Faculty of Medicine, Ege University, Izmir, Turkey¹;
 Chest Diseases Department, Faculty of Medicine, Ege University, Izmir, Turkey²; and
 Mycobacteriology Laboratory, Medical Microbiology Department, Faculty of
 Medicine, Ege University Izmir, Turkey³*

Received 10 August 2011/Returned for modification 7 September 2011/Accepted 20 September 2011

Mycobacterium tuberculosis remains one of the most significant causes of death from an infectious agent. The rapid diagnosis of tuberculosis and detection of rifampin (RIF) resistance are essential for early disease management. The GeneXpert MTB/RIF assay is a novel integrated diagnostic device for the diagnosis of tuberculosis and rapid detection of RIF resistance in clinical specimens. We determined the performance of the MTB/RIF assay for rapid diagnosis of tuberculosis and detection of rifampin resistance in smear-positive and smear-negative pulmonary and extrapulmonary specimens obtained from possible tuberculosis patients. Two hundred fifty-three pulmonary and 176 extrapulmonary specimens obtained from 429 patients were included in the study. One hundred ten (89 culture positive and 21 culture negative for *M. tuberculosis*) of the 429 patients were considered to have tuberculosis. In pulmonary specimens, sensitivities were 100% (27/27) and 68.6% (24/35) for smear-positive and smear-negative specimens, respectively. It had a lower sensitivity with extrapulmonary specimens: 100% for smear-positive specimens (4/4) and 47.7% for smear-negative specimens (21/44). The test accurately detected the absence of tuberculosis in all 319 patients without tuberculosis studied. The MTB/RIF assay also detected 1 RIF-resistant specimen and 88 RIF-susceptible specimens, and the results were confirmed by drug susceptibility testing. We concluded that the MTB/RIF test is a simple method, and routine staff with minimal training can use the system. The test appeared to be as sensitive as culture with smear-positive specimens but less sensitive with smear-negative pulmonary and extrapulmonary specimens that include low numbers of bacilli.

Mycobacterium tuberculosis remains one of the most significant causes of death from an infectious agent. The incidence of pulmonary tuberculosis in Turkey is nearly 27.9 per 100,000 population, according to the 2009 *Tuberculosis Report in Turkey* (19). The proportion of multidrug-resistant (MDR) tuberculosis (TB) cases among new cases is 2.9%, that among previously treated cases is 15.5%, and that among all TB cases is 4.9% (19). The rapid detection of *M. tuberculosis* and rifampin (RIF) resistance in infected patients is essential for disease management, because of the high risk of transmission from person to person and emergence of MDR-TB and extensively drug resistant tuberculosis. Culture is the “gold standard” for final determination, but it is slow and may take up to 2 to 8 weeks. Although smear microscopy for acid-fast bacilli (AFB) is rapid and inexpensive, it has poor sensitivity and a poor positive predictive value (PPV). Thus, rapid identification, which is essential for earlier treatment initiation, improved patient outcomes, and more effective public health interventions, relies on nucleic acid amplification techniques (1).

Collectively, DNA sequencing studies demonstrate that more than 95% of RIF-resistant *M. tuberculosis* strains have a

mutation within the 81-bp hot spot region of the *rpoB* gene (6, 15, 18). Several molecular methods have been developed in recent years for the diagnosis of tuberculosis and rapid detection of drug resistance in clinical specimens, including line probe assays (GenoType MTBDRplus [Hain Lifescience GmbH, Nehren, Germany], INNO LIPA Rif.TB [Innogenetics, Ghent, Belgium]) and real-time PCR (GeneXpert MTB/RIF; Cepheid, Sunnyvale, CA). Molecular assays have been established to allow the prediction of drug resistance in clinical specimens within 1 working day and are potentially the most rapid methods for the detection of drug resistance (3, 6, 7, 9, 10, 11, 13, 15). The GeneXpert MTB/RIF assay is a novel integrated diagnostic device that performs sample processing and heminested real-time PCR analysis in a single hands-free step for the diagnosis of tuberculosis and rapid detection of RIF resistance in clinical specimens (3, 9). The MTB/RIF assay detects *M. tuberculosis* and RIF resistance by PCR amplification of the 81-bp fragment of the *M. tuberculosis rpoB* gene and subsequent probing of this region for mutations that are associated with RIF resistance. The assay can generally be completed in less than 2 h (3, 9).

The aim of this study was to determine the sensitivity and specificity of the MTB/RIF assay for the diagnosis of tuberculosis and rapid detection of rifampin resistance in smear-positive and smear-negative pulmonary and nonpulmonary clinical specimens. The results obtained by the MTB/RIF assay were compared with the results obtained by culture and phenotypic susceptibility testing.

* Corresponding author. Mailing address: Mycobacteriology Laboratory, Medical Microbiology Department, Faculty of Medicine, Ege University, 35100 Bornova, Izmir, Turkey. Phone: 90 (232) 390 2992. Fax: 90 (232) 390 4774. E-mail: cengizc2003@yahoo.com.

[†] Published ahead of print on 28 September 2011.

Artikel Penelitian

Nilai Diagnostik Metode “Real Time” PCR GeneXpert pada TB Paru BTA Negatif

Eka Kurniawan¹, Raveinal², Fauzar³, Zulkarnain Arsyad⁴

Abstrak

Tuberkulosis (TB) paru adalah penyakit menular yang disebabkan oleh kuman *Mycobacterium tuberculosis*. TB masih tetap menjadi masalah kesehatan dunia karena lebih kurang 1/3 penduduk dunia terinfeksi oleh kuman ini dan sumber penularannya berasal dari Basil Tahan Asam (BTA) positif maupun negatif. TB paru BTA negatif didiagnosis berdasarkan gambaran klinis dan rontgen torak yang sesuai TB serta pertimbangan dokter sehingga hal ini dapat menimbulkan under atau over diagnosis TB. GeneXpert merupakan pemeriksaan molekuler dengan metode “real time” PCR dan merupakan penemuan terobosan untuk mendiagnosis TB secara cepat. Tujuan penelitian ini adalah melakukan penilaian validitas GeneXpert pada TB paru BTA negatif dibandingkan dengan kultur Lowenstein Jensen. Desain penelitian uji diagnostik ini adalah *cross sectional study*. Penelitian dilakukan terhadap 40 orang pasien TB paru BTA negatif di Puskesmas sekitar kota Padang dan pasien yang dirawat di Bagian Penyakit Dalam RS dr. M. Djamil Padang. Dilakukan pemeriksaan sputum dengan GeneXpert dan dibandingkan dengan kultur Lowenstein Jensen. Hasil uji diagnostik dengan GeneXpert untuk mendiagnosis TB paru BTA negatif didapatkan sensitivitas 83.33%, spesifisitas 95.46%, nilai prediksi positif 93.75%, nilai prediksi negatif 87.5% dan akurasi 90% serta hasil uji kappa didapatkan 0.796. Disimpulkan GeneXpert memiliki sensitivitas, spesifisitas, nilai prediksi positif, nilai prediksi negatif dan akurasi yang tinggi pada TB paru BTA negatif.

Kata kunci: nilai diagnostik, TB paru BTA negatif, GeneXpert

Abstract

*Pulmonary tuberculosis is an infectious disease caused by *Mycobacterium tuberculosis*. TB is still a global health problem. Approximately one third of the world population is infected by *Mycobacterium tuberculosis* and the source of infection came from smear positive and negative patient. Smear negative pulmonary TB can be considered based on clinical symptom and chest x-ray as well as description of TB and it's depend on doctor's decision, so this can lead to under or over-diagnosis. Molecular examination with real time PCR method of GeneXpert is a breakthrough invention to diagnose TB quickly. The objective of this study was to assess the validity of GeneXpert in smear negative pulmonary TB and it's compared with Lowenstein Jensen culture. Study design was diagnostic test with cross sectional study. Research conducted on 40 patients with smear negative pulmonary TB in public health centers around the city of Padang and the patients who were treated at the Internal Medicine department of dr. M. Djamil hospital Padang. Sputum examination conducted by GeneXpert compared with Lowenstein Jensen culture. Diagnostic value of GeneXpert for diagnosing smear negative pulmonary tuberculosis are sensitivity 83.33%, specificity 95.46%, positive predictive value 93.75%, negative predictive value 87.5% and accuracy 90%. Kappa value is 0.796. GeneXpert has a high sensitivity, specificity, positive predictive value, negative predictive value and accuracy on smear negative pulmonary tuberculosis.*

Keywords: diagnostic value, smear negative pulmonary tuberculosis, GeneXpert

Afiliasi penulis: Bagian Ilmu Penyakit Dalam FK UNAND/RSUP dr. M. Djamil Padang
Korespondensi: Eka Kurniawan, Email : drkaka.kurniawan@gmail.com, Telp: 085263455078

PENDAHULUAN

Tuberkulosis paru adalah penyakit menular yang disebabkan oleh kuman *Mycobacterium tuberculosis*. Gejala utama adalah batuk selama dua

PEMANFAATAN TES CEPAT MOLEKULER (TCM) *GENEXPERT* SEBAGAI ALAT DIAGNOSTIK TB PARU DI RSUD WANGAYA KOTA DENPASAR

The Implementation of GenExpert as TB Diagnostic Tool in Wangaya Hospital, Denpasar City

Novianti¹, Oster Suriani Simarmata¹, Dina Bisara Lolong¹

¹Puslitbang Upaya Kesehatan Masyarakat, Badan Litbangkes

Email : novianti.ms@gmail.com

Diterima: 29 Oktober 2019; Direvisi: 3 Januari 2019; Disetujui: 14 Februari 2020

ABSTRACT

Tuberculosis remains a major public health problem, with an estimated 9 million TB incidence cases, 300,000 of which are drug resistant TB cases and resulted in 1.5 million deaths worldwide in 2013. However, only 58% of new cases, TB cases were confirmed bacteriologically using WHO recommended test including the Xpert® MTB/RIF Rapid Diagnosis. The use of GeneXpert in Indonesia has existed since 2014 and has never been evaluated in its utilization, including in the city of Denpasar, namely in Wangaya Hospital as one of the recipients of the GeneXpert pulmonary TB diagnostic aid. The results of this study showed that the results of GeneXpert examination were much higher in the percentage of Positive TB Case Findings compared to microscopic examination so that there is an increase in the number of positive TB cases by 14.3%. The GeneXpert examination succeeded in giving positive results compared to the microscopic results showing negative results, which were sensitive Rifampicin (14.6%) and resistant Rifampicin (2.4%). However, the utilization of TB suspect examination with GeneXpert has not been maximized in increasing the number of TB patients suspected of having TB, in fact, the percentage of positive TB case finding compared to TB suspicion is increasing.

Keywords: *GeneXpert, rapid diagnosis of tuberculosis, pulmonary tuberculosis*

ABSTRAK

Tuberkulosis (TB) tetap menjadi masalah kesehatan masyarakat yang utama, diperkirakan telah terjadi 9 juta kasus insiden TB, 300.000 di antaranya adalah kasus TB *multidrug resistant* (TB MDR) dan mengakibatkan 1,5 juta kematian di seluruh dunia pada tahun 2013. Namun, baru 58% dari kasus baru, kasus TB dikonfirmasi secara bakteriologis menggunakan tes yang direkomendasikan oleh WHO termasuk Tes Cepat Molekuler (TCM) GeneXpert® MTB/RIF (Xpert). Pemanfaatan TCM GeneXpert di Indonesia ada sejak 2014 dan belum pernah dilakukan evaluasi dalam pemanfaatannya termasuk di Kota Denpasar yaitu di RSUD Wangaya sebagai salah satu penerima bantuan alat diagnostik TB Paru TCM GeneXpert. Hasil studi menunjukkan bahwa hasil pemeriksaan dengan TCM GeneXpert jauh lebih tinggi persentase penemuan kasus positif TBC dibanding dengan pemeriksaan mikroskopis sehingga terdapat peningkatan jumlah kasus positif TBC sebesar 14,3% di RSUD Wangaya pada tahun 2018. Pemeriksaan TCM *GeneXpert* berhasil memberikan hasil yang positif di saat hasil pemeriksaan mikroskopis menunjukkan hasil negatif yaitu Rifampisin sensitif (14,6%) dan Rifampisin resisten (2,4%). Pemanfaatan pemeriksaan terduga TB dengan TCM GeneXpert belum maksimal dalam meningkatkan jumlah pemeriksaan pasien terduga TB Paru, walaupun persentase penemuan kasus positif TB dibanding terduga TB meningkat.

Kata kunci: Tes cepat molekuler, geneXpert, tuberkulosis paru

PENDAHULUAN

Tuberkulosis (TB) merupakan penyakit infeksius dan sangat menular yang disebabkan oleh *Mycobacterium tuberculosis*

(*M. tuberculosis*). Tuberkulosis (TB) tetap menjadi masalah kesehatan masyarakat yang utama, diperkirakan telah terjadi 9 juta kasus insiden TB, 300.000 diantaranya adalah

Perbandingan uji diagnostik *GeneXpert MTB/RIF* untuk mendeteksi resistensi rifampisin *Mycobacterium tuberculosis* pada pasien Tb paru di RSUP dr. Moh. Hoesin Palembang

Erizka Rivani¹, Tia Sabrina^{1*}, Venny Patricia²

¹Departemen Mikrobiologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya,

²Departemen Mikrobiologi Klinik/RSUP dr. Moh Hoesin Palembang

Abstrak

Tuberkulosis (TB) masih menjadi masalah global. TB menduduki peringkat kedua penyebab kematian dari seluruh penyakit infeksi di dunia. Kelemahan dalam mendiagnosis dan pengobatan cepat selain dapat berdampak pada pasien, juga terhadap perkembangan resistensi sekunder dan penyebaran dari penyakit ini. Sebagai alternatif, teknik molekuler diagnostik dapat mempercepat TAT dan meningkatkan sensitifitas dan spesifisitas. Tes GeneXpert MTB/RIF merupakan mesin otomatis dengan penggunaan mudah dan cepat yang menggunakan prinsip *nested real-time* PCR dan teknologi molekuler untuk mendeteksi *M. tuberculosis* (MTB) dan resistensi obat rifampisin (RIF). Penelitian ini merupakan studi observasional analitik di laboratorium dengan pendekatan *purposive sampling*. Penilaian hasil sensitivitas dan spesifisitas GE memiliki nilai 97% dan 93% terhadap mikroskopis BTA; Sensitivitas dan spesifisitas GE memiliki nilai 97% dan 62% terhadap kultur MTBC; Persentase deteksi Rifampisin resisten pada GE sebesar 167(31%) lebih tinggi dari pada kultur MTBC sebesar 103(21.7%); Ada 3 sampel dari 5 sampel yang hasil BTA positif dan GE negatif yang memiliki gen hsp65 yang menunjukkan adanya bakteri MOTT

Kata kunci: Sensitivitas, Spesifisitas, GeneXpert, MOTT

Abstract

Comparison of the MTB/RIF GeneXpert diagnostic test to detect resistance rifampicin *Mycobacterium tuberculosis* in patients with pulmonary tuberculosis at RSUP dr. Moh. Hoesin Palembang. Tuberculosis (TB) is still a global problem. TB is ranked second cause of death from all infectious diseases in the world. Weaknesses for diagnosing and rapid treatment can also affect the patient, as well as the development of secondary resistance and the spread of the disease. Alternatively, molecular diagnostic techniques can accelerate TAT and increase sensitivity and specificity. The GeneXpert MTB / RIF test is an easy-to-use, automated machine that uses the real-time PCR and nested molecular nested principles to detect *M. tuberculosis* (MTB) and rifampicin (RIF) drug resistance. **Method:** This researches is an observational analytic study in laboratory with purposive sampling approach. **Results:** The sensitivity and specificity of GE had 97% and 93% of microscopic smear; The sensitivity and specificity of GE have a value of 97% and 62% of the culture of MTBC; The percentage of Rifampicin-resistant detection at GE was 167 (31%) higher than in the MTBC culture of 103 (21.7%); There were 3 samples from 5 samples with positive smear and negative GE which had a hsp65 gene that showed the presence of MOTT bacteria

Keywords: Sensitivity, Specificity, GeneXpert, MOTT

**PERFORMA TES CEPAT MOLEKULER DALAM DIAGNOSA
TUBERKULOSIS DI BALAI BESAR KESEHATAN PARU MASYARAKAT
MAKASSAR**

Nurlia Naim¹, Novi Utami Dewi²
^{1,2}Jurusan Analisis Kesehatan Poltekkes Makassar
Koresponden : nurlianaim0416@gmail.com

ABSTRAK

Mycobacterium tuberculosis merupakan salah satu bakteri patogen intrasel yang menimbulkan penyakit tuberkulosis (TB). Tes cepat molekuler (TCM) merupakan metode penemuan terbaru untuk diagnosis TB berdasarkan pemeriksaan molekuler yang menggunakan metode *Real Time Polymerase Chain Reaction Assay* (RT-PCR) semi kuantitatif yang menargetkan wilayah hotspot gen *rpoB* pada *Mycobacterium tuberculosis* (MTB), yang terintegrasi dan secara otomatis mengolah sediaan dengan ekstraksi *deoxyribonucleic acid* (DNA) dalam *cartridge* sekali pakai. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisa performa tes cepat molekuler dalam diagnosis tuberkulosis. Penelitian yang dilakukan adalah penelitian *cross sectional study* dengan teknik pengambilan sampel secara *purposive sampling* sebanyak 111 sampel di Balai Besar Kesehatan Paru Masyarakat Makassar. Hasil Uji TCM didapatkan sensitivitas sebesar 73,33%, spesifitas 90,12%, Nilai Ramal Positif (NRP) 73,33% dan Nilai Ramal Negatif (NRN) 76,86% dalam mendeteksi MTB dan pada Uji Wilcoxon didapatkan nilai signifikansi (*p*) sebesar 0,920 (*P*>0,05) yang berarti tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara metode TCM dengan metode gold standar kultur. TCM memiliki sensitivitas sebesar 89,47%, spesifitas 25%, Nilai Ramal Positif (NRP) 85% dan Nilai Ramal Negatif (NRN) 33,33% dalam deteksi resistensi rifampisin dan pada Uji Fishers Exact didapatkan nilai signifikansi 0,453 yang lebih besar dari 0,05 (*P* > 0,05) yang berarti tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara TCM dengan metode proporsi. Disimpulkan bahwa TCM memiliki nilai spesifisitas yang tinggi untuk mendeteksi MTB sehingga dapat digunakan dalam diagnosis tuberkulosis dan memiliki nilai sensitifitas yang tinggi untuk digunakan sebagai alat *screening* uji resistensi terhadap Rifampisin.

Kata kunci : Performa Tes Cepat Molekuler , Diagnosis, Tuberkulosis

Pendahuluan

Mycobacterium tuberculosis merupakan salah satu bakteri patogen

intrasel yang menimbulkan penyakit tuberkulosis (TB). Tuberkulosis (TB) merupakan salah satu penyakit yang

Rapid diagnosis of tuberculosis using Xpert MTB/RIF assay - Report from a developing country

Shagufta Iram¹, Asyia Zeenat², Shahida Hussain³,
Noshin Wasim Yusuf⁴, Maleeha Aslam⁵

ABSTRACT

Objective: To evaluate the diagnostic accuracy of the Xpert MTB/RIF assay for the detection of *M. tuberculosis* in pulmonary and extrapulmonary specimens and to compare it with conventional techniques.

Methods: During a period of 10 months from December 2012 through September 2013, two hundred and forty five clinically TB suspects were enrolled for Xpert MTB/RIF assay. The cohort comprised of 205 suspects of pulmonary TB and 40 of extrapulmonary TB (EPTB). The 40 EPTB samples included pus aspirated from different sites of the body (n=19), pleural fluid (n=11), ascitic fluid (n=7), pericardial fluid, CSF and urine one each. Ziehl-Neelsen (ZN) Stained smear microscopy, culture on LJ media and Xpert MTB/RIF assay was performed on samples from these patients.

Results: *M. tuberculosis* (MTB) were detected by Xpert MTB/RIF test in 111 (45.3%) out of 245 samples. Of these, 85 (34.7%) were smear positive on ZN staining and 102 (41.6%) were positive on LJ cultures. Rifampicin resistance was detected in 16 (6.5%) patients. Nine out of 19 pus samples (47.3%) were positive for MTB by Gene Xpert, 03 (15.8%) on ZN staining and 04 (21%) on LJ culture. MTB could not be detected in any other extrapulmonary sample.

Conclusion: Xpert MTB/RIF is a sensitive method for rapid diagnosis of Tuberculosis, especially in smear negative cases and in EPTB as compared to the conventional ZN staining. Among EPTB cases the highest yield of positivity was shown in Pus samples. For countries endemic for TB GeneXpert can serve as a sensitive and time saving diagnostic modality for pulmonary and EPTB.

KEY WORDS: Tuberculosis, Gene-Xpert, TB culture, ZN smear.

doi: <http://dx.doi.org/10.12669/pjms.311.6970>

How to cite this:

Iram S, Zeenat A, Hussain S, Yusuf NW, Aslam M. Rapid diagnosis of tuberculosis using Xpert MTB/RIF assay - Report from a developing country. *Pak J Med Sci* 2015;31(1):105-110. doi: <http://dx.doi.org/10.12669/pjms.311.6970>

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<http://creativecommons.org/licenses/by/3.0>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

1. Shagufta Iram, M.Phil Microbiology, Assistant Professor of Pathology,
 2. Asyia Zeenat, MSc Molecular Biology,
 3. Shahida Hussain, M.Phil Biotechnology,
 4. Noshin Wasim Yusuf, MBBS, M.Phil, MRC.Path, FRC.Path, Professor and Head of Department of Pathology,
 5. Maleeha Aslam, M.Phil Microbiology,
- 1-5: Allam Iqbal Medical College, Lahore, Pakistan.

Correspondence:

Dr. Noshin Wasim Yusuf,
95-Upper Mall,
Lahore 54000, Pakistan.
E-mail: noshinwasim@hotmail.com

- * Received for Publication: August 20, 2014
- * 1st Revision Received: August 21, 2014
- * 2nd Revision Received: October 17, 2014
- * 3rd Revision Received: October 29, 2014
- * Final Revision Accepted: November 1, 2014

INTRODUCTION

An alarming rise in the global incidence of infections caused by *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) has prompted the need for rapid diagnostic techniques.¹ With an estimated 8.7 million new cases and 1.4 million deaths every year, tuberculosis (TB) remains a leading public health problem worldwide.² Over 90% of TB cases develop among people living in low and middle income countries like Pakistan. Based on worldwide incident cases in 2007, World Health Organization (WHO) ranked Pakistan eighth in the list of high burden countries.³ EPTB is equally prevalent in all the high burden zones. According to WHO, 34,000 (15%) of newly reported TB cases in 2007 were extrapulmonary.^{4,5}

Evaluation of direct detection of *Mycobacterium tuberculosis* complex in respiratory and non-respiratory clinical specimens using the Cepheid Gene Xpert® system

Souad M. Al-Ateah, BSc, MSc, Maha M. Al-Dowaidi, BTEC, Noura A. El-Khizzi, MD, FRCPath (Micro).

ABSTRACT

الأهداف: تقييم مدى حساسية ودقة اختبار جين اكسبرت إم تي بي / ريفامبين (Xpert MTB/Rif assay) للكشف عن عصيات السل الرئوي ومقارنتها بالطرق التقليدية في العينات التنفسية والغير تنفسية المشتبه إصابتها بالسل الرئوي.

الطريقة: أجريت هذه الدراسة المقطعية في المختبر المركزي العسكري وبنك الدم في مدينة الأمير سلطان العسكرية الطبية بالرياض، المملكة العربية السعودية وذلك خلال الفترة من أكتوبر 2011 إلى يناير 2012م. لقد تم تقييم اختبار جين اكسبرت إم تي بي / ريفامبين للكشف عن عصيات السل الرئوي على 239 عينة (172 عينة تنفسية، و 67 عينة غير تنفسية) من 234 مريض يُشتبه إصابتهم بالسل الرئوي ومقارنتها بالطرق التقليدية للفحص المجهرى وزراعة الخلايا.

النتائج: تمت دراسة 239 عينة وكانت النتائج كالتالي 62 (25.9%) موجبة للسل الرئوي تم عزلها من زراعة الخلايا فيما كانت 59 (24.6%) عينة موجبة للسل الرئوي تم عزلها بواسطة اختبار جين اكسبرت إم تي بي / ريفامبين. وأعطت 3 عينات نتائج سلبية خاطئة. وقد أظهرت نتائج التقييم لهذا الاختبار 95.4% (95%CI: 89-100%) لدقة العينات التنفسية، وبينما كانت درجة الحساسية للعينات الغير تنفسية تصل إلى 94.4% (95%CI: 90.2-98.5) ودرجة الدقة تصل إلى 100% (95%CI: 95.8-100%) . وكانت نتائج التقييم الإجمالي جين اكسبرت إم تي بي / ريفامبين مقارنة بالطرق التقليدية للكشف عن عصيات السل الرئوي لجميع العينات تصل إلى 95.2% (95%CI: 87.6-100) لدرجة الحساسية و 100% (95%CI: 92.4-100%) لدرجة الدقة.

خاتمة: أثبتت نتائج الدراسة الحالية مدى فعالية جين اكسبرت إم تي بي / ريفامبين في الكشف السريع عن عصيات السل الرئوي في العينات التنفسية والغير تنفسية بحساسية ودقة عالية خلال ساعتين مقارنة مع طرق الزراعة المعتادة التي تأخذ وقت أطول لعزل عصيات السل الرئوي.

Objective: To compare the sensitivity and specificity of Cepheid Gene Xpert®, MTB/RIF assay for direct detection of *Mycobacterium tuberculosis* complex (MTBC) and rifampin (RIF) resistance with conventional methods in respiratory and non-respiratory clinical specimens.

Methods: We used a cross sectional design to evaluate a diagnostic test at the TB Section of the Division of Microbiology, Central Military Laboratory and Blood

Bank, Prince Sultan Military Medical City, Riyadh, Kingdom of Saudi Arabia from October 2011 to January 2012. The detection of MTBC and RIF resistance using the Xpert® MTB/RIF assay was assessed in 239 (172 respiratory, and 67 non respiratory) specimens received from 234 patients suspected of TB, and compared with conventional smear microscopy and culture methods.

Results: Out of the 239 specimens investigated, 62 (25.9%) were MTBC positive by culture, while 59 (24.6%) were positive by Xpert® assay. Three samples showed false negative Xpert® results. Compared with the culture, the Xpert® assay achieved 95.4% (95% CI: 89-100%) sensitivity, and 100% (95% CI: 93.6-100%) specificity for respiratory samples, while the sensitivity for non-respiratory specimens was 94.4% (95% CI: 90.2-98.5), and the specificity for non-respiratory specimens was 100% (95% CI: 95.8-100%). Overall, a 95.2% (95% CI: 87.6-100) sensitivity, and 100% (95% CI: 92.4-100%) specificity, was observed for the Xpert® MTB/RIF assay compared with conventional methods for MTBC detection.

Conclusion: The gene Xpert® MTB/RIF assay is a helpful tool for the detection of MTBC and RIF resistance in respiratory and non-respiratory clinical samples with a high sensitivity and specificity within 2 hours as compared with conventional methods, which took a much longer time.

Saudi Med J 2012; Vol. 33 (10): 1100-1105

From the Division of Microbiology, TB Section, Department of Central Military Laboratory and Blood Bank, Prince Sultan Military Medical City, Riyadh, Kingdom of Saudi Arabia.

Received 25th April 2012. Accepted 29th August 2012.

Address correspondence and reprint request to: Dr. Souad M. Al-Ateah, Division of Microbiology, TB Section, Department of Central Military Laboratory and Blood Bank, Prince Sultan Military Medical City, PO Box 7897 (V898), Riyadh 11159, Kingdom of Saudi Arabia. Tel. +966 (1) 4777714. Ext. 24455. Fax. +966 (1) 4783033. E-mail: suaad.6@hotmail.com; satayah@rmh.med.sa



Evaluation of GeneXpert MTB/RIF for detecting *Mycobacterium tuberculosis* in a hospital in China

Tingyu Tang, Fang Liu, Xiaoling Lu and Qingdong Huang

Abstract

Objective: To evaluate the performance of GeneXpert MTB/RIF in diagnosing pulmonary tuberculosis (TB) in China.

Methods: This cross-sectional study included sputum specimens of 240 suspected TB cases. Specimens were examined by light microscopy for the presence of acid-fast bacilli, which were cultured by the BACTEC MGIT 960 (M960) system and detected by the GeneXpert MTB/RIF assay. The positive rate, sensitivity, specificity, positive predictive value (PPV), negative predictive value (NPV), and average turnaround time of methods were evaluated.

Results: The positive rate was 36.6% (87/238) for the GeneXpert MTB/RIF assay and 34.0% (81/238) by M960 culture, with no significant difference between methods ($\chi^2 = 0.33$, $p > 0.05$). According to culture results, sensitivity of the GeneXpert MTB/RIF assay was 84.0% (68/81), specificity was 87.8% (129/147), the PPV was 78.2% (68/87), and the NPV was 87.2% (129/148). The agreement for results between Gene Xpert MTB/RIF and the M960 system was 82.8% and the Kappa value was 0.73.

Conclusion: The GeneXpert MTB/RIF assay is a simple, rapid, and accurate test for detecting *Mycobacterium tuberculosis* in sputum specimens.

Keywords

Tuberculosis, GeneXpert MTB/RIF, China

Date received: 5 November 2016; accepted: 17 February 2017

Introduction

Tuberculosis (TB) is a deadly infectious disease that is caused by *Mycobacterium tuberculosis* (M.tb) worldwide. In 2014, 9.6 million people were estimated to have fallen ill with TB and 1.5 million people died because of TB worldwide.¹ China has

Department of Respiratory Medicine, Zhejiang Hospital, Xihu District, Hangzhou, Zhejiang Province, China

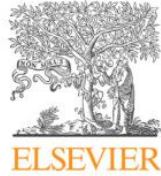
Corresponding author:

Qingdong Huang, Zhejiang Hospital, Xihu District, Hangzhou, Zhejiang Province, China.

Email: zjyqhqd1@163.com



Creative Commons CC-BY-NC: This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 3.0 License (<http://www.creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits non-commercial use, reproduction and distribution of the work without further permission provided the original work is attributed as specified on the SAGE and Open Access pages (<https://us.sagepub.com/en-us/nam/open-access-at-sage>).



Evaluation of GeneXpert MTB/RIF for the detection of *Mycobacterium tuberculosis* and resistance to rifampin in clinical specimens

Eleonora Bunsow^{a,*}, María Jesús Ruiz-Serrano^{a,c},
Paula López Roa^a, Martha Kestler^a, Dario Garcia Viedma^{a,c},
Emilio Bouza^{a,b,c}

^a Department of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Doctor Esquerdo, 46, 28007 Madrid, Spain

^b Facultad de Medicina, Universidad Complutense de Madrid, Spain

^c CIBER de Enfermedades Respiratorias (CIBERES), Spain

Accepted 21 November 2013

Available online 1 December 2013

KEYWORDS

Tuberculosis;
GeneXpert;
Rifampin-resistant;
Molecular diagnosis

Summary *Objectives:* GeneXpert (GX) is a novel real-time polymerase chain reaction assay for the simultaneous detection of *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) and resistance to rifampin (RIF). We evaluated the performance of GX for direct detection of MTB in respiratory and non-respiratory specimens and assessed the ability of the assay to detect resistance to RIF in non-tuberculosis (TB) endemic country.

Methods: We analyzed 595 clinical samples in a 1550-bed tertiary hospital in Madrid, Spain. Specimens were processed using GX, auramine smear, conventional culture, and drug phenotypic susceptibility testing (DST) with MGIT SIRE (BD).

Results: Of the 595 clinical samples, 305 (51.3%) were non-respiratory and 290 (48.7%) were respiratory. In total, MTB was isolated in 81 specimens, 71 of which were positive with GX. The sensitivity, specificity, PPV, and NPV of the GX were: 97.1%, 98.6%, 95.7% and 99.1% for respiratory samples and 33.3%, 99.7%, 80.0% and 97.3% for non-respiratory. GX detected 8 RIF-resistant samples, but only 5 were confirmed by DST.

Conclusions: GX is an accurate, easy-to-apply and rapid test to detect MTB, especially in smear-positive respiratory samples. Although is a useful tool for the rapid identification of RIF-resistant MTB strains, the rifampin resistant results should be confirmed by DST.

© 2013 The British Infection Association. Published by Elsevier Ltd. All rights reserved.

* Corresponding author. Servicio de Microbiología y Enfermedades Infecciosas, Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Doctor Esquerdo, 46, 28007 Madrid, Spain. Tel.: +34 91 5868453; fax: +34 91 5044906.

E-mail address: eleonorabunsow@hotmail.com (E. Bunsow).

Comparison of Ziehl Neelsen Microscopy with GeneXpert for Detection of Mycobacterium Tuberculosis

Muhammad Kashif Munir¹, Sana Rehman¹, Muhammad Aasim¹, Rizwan Iqbal¹,
Saqib Saeed².

¹. PMRC TB Research Centre KEMU Mayo Hospital Lahore, ². Institute of chest Medicine Mayo Hospital Lahore.

^{1,2,3,4} Pakistan Medical Research Council TB Research Centre King Edward Medical University Lahore

³ Department of Chest Medicine, King Edward Medical University Lahore

Abstract:

Background: Tuberculosis (TB) is a transmissible bacteriological ailment triggered by *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) and is still one of the biggest challenges for developing countries. Main reasons for using the ZN smear microscopy is its low cost, high specificity, does not require sophisticated equipment or high laboratory standards. Culture being gold standard is unable to provide early results and necessarily 4-6 weeks are required for ultimate diagnosis. Newly administered GeneXpert MTB/RIF assay takes only two hours to provide the final results, distinguishes MTB and *Mycobacteria* other than tuberculosis and also provide rifampicin resistance simultaneously.

Settings: This descriptive study was carried out in Pakistan Medical Research Council TB Research Centre in collaboration with department of Chest Medicine King Edward Medical University/ Mayo Hospital Lahore from December 2012 to March 2014.

Objectives: This study was undertaken to assess the value of GeneXpert in diagnosis of *Mycobacterium tuberculosis* complex in comparison with ZiehlNeelsen smear microscopy and to observe the additional diagnostic value of the technique.

Design: This is a descriptive study based on retrospective data.

Results: A total of 403 patients were included in present study of which 48.1% females and 51.9% males with mean age of 35.3±15.9. ZiehlNeelsen smear positivity for acid fast bacilli was 67.5%, GeneXpert positivity for TB remained 77.4% and culture positivity remained 85.1% for TB on culture. Sensitivity, specificity, negative predictive value and accuracy of GeneXpert were 90.1%, 98.3%, 62.6%, 91.3% are significantly higher as compared to smear which were 77.7%, 91.4%, 40.8% and 79.7% respectively. Positive predictive values were 99.7%, 98.2% for two techniques and there was no significant difference.

Conclusion: Diagnostic value of GeneXpert is significantly high as compared to ZiehlNeelsen smear microscopy and a useful tool in early diagnosis of tuberculosis.

Key Words: Prevalence of TB, Acid Fast Bacilli, Microscopy, LJ Medium, Rapid diagnosis

I. Introduction

Tuberculosis (TB) is a transmissible bacteriological ailment triggered by *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) and is still one of the biggest challenges for developing countries. TB spreads by inhaling minute droplets produced by coughing or sneezing from infected person(s). Even though TB is a curable disease it still manages to kill around 5000 people every day according to World Health Organization (WHO)¹. This disease affects the most vulnerable community like poorest and malnourished individuals. Global incidence rate of TB is still rising 1% every year due to rapid increase of disease in Africa¹. Pakistan ranks 5th amongst the 22 high TB burden countries. Prevalence of TB has been estimated to 350/100000 and mortality 33/100000 in Pakistan² while lesser mortality rate of 22/100000 is found to be in India³.

Mycobacterium tuberculosis can be stained by using a simple histological staining method called ZiehlNeelsen (ZN). The Acid fast bacilli in the smear (*Mycobacterium tuberculosis*) stains up bright red with background as blue. Making this a popular method of choice for prompt diagnosis of MTB in the most of developing countries including Pakistan⁴. Main reasons for using the ZN smear microscopy is its low cost, high specificity, does not require sophisticated equipment or high laboratory standards. Provision results can be achieved usually within two hours; however test is less sensitive and normally requires bacilli high as 5000-10,000 per ml of specimen for the smear to become positive, however this test can't be used to distinguish between MTB and *Mycobacteria* only for tuberculosis⁵. Culture being gold standard is unable to provide early results and necessarily 4-6 weeks are required for ultimate diagnosis. Relatively faster radiometric

Valuing the use of GeneXpert test as an unconventional approach to diagnose pulmonary tuberculosis

Amany Omar, Abd-Elazim Abo Elfadl, Yousef Ahmed, Moustafa Hosny

Background A rapid, highly sensitive, and qualitative diagnostic test will significantly reduce the incidence of tuberculosis (TB). GeneXpert test is the test that is supposed to play this role with those specifications.

Objective Our goal was to assess the precision of the GeneXpert test in the diagnosis of pulmonary TB.

Patients and methods This cross-sectional analytic study was carried out at Assiut University Hospital in collaboration with Assiut Chest Hospital, Assiut, Egypt. A total of 67 patients of suspected pulmonary TB were included. For microbiological examination, two sputum samples were obtained from each patient within the same day. One sample was collected at Assiut University Hospital and subjected to smear microscopy by Ziehl–Neelsen staining and culture on Lowenstein–Jensen media. The other sample was taken at Assiut Chest Hospital to be processed for GeneXpert *Mycobacterium tuberculosis*/rifampicin assay. The culture was applied as a confirmatory test to evaluate the Xpert *Mycobacterium tuberculosis*/rifampicin assay test.

Results GeneXpert had 95.9% sensitivity and 94.4% specificity in diagnosing pulmonary TB with the area under the curve of 0.95 and overall diagnostic accuracy of 95.5%.

Ziehl–Neelsen examination had 65.3% sensitivity and 100% specificity with the area under the curve of 0.83 and overall diagnostic accuracy of 74.6. For smear-negative, culture-positive cases, GeneXpert showed sensitivity of 94.1%. False-positive GeneXpert for TB was recorded in just one patient.

Conclusion The GeneXpert test is accurate in diagnosing pulmonary TB and its greatest benefit is clearly demonstrated in smear-negative TB cases. However, the test is not free from some fallacies, even if they are a few, which draws our attention to the importance of the conventional culture for TB and the clinical correlation.

Egypt J Bronchol 2019 13:403–407

© 2019 Egyptian Journal of Bronchology

Egyptian Journal of Bronchology 2019 13:403–407

Keywords: Assiut, Egypt, GeneXpert, pulmonary tuberculosis, Ziehl–Neelsen

Department of Chest, Faculty of Medicine, Assiut University, Assiut, Egypt

Correspondence to Yousef Ahmed, MD, Department of Chest, Faculty of Medicine, Assiut University Hospital, Assiut, Egypt. Tel: +20 102 503 3083; e-mail: yousef_ahmed1972@yahoo.com

Received 16 November 2018 **Accepted** 3 February 2019

Introduction

Tuberculosis (TB) remains one of the major health risks around the world that is associated with high morbidity and deaths [1,2]. The fast and precise determination of TB infection and disease is basic for a convenient start of treatment and, eventually, control of the malady. In clinical practice, however, TB can be difficult to diagnose, and early TB detection remains a challenge for physicians [3]. The diagnostic challenges can be further magnified in special situations such as extrapulmonary TB, childhood TB, and patients coinfecting with HIV and TB [4]. A rapid, highly sensitive, and qualitative diagnostic test will significantly reduce the incidence of TB. GeneXpert test is the test that is supposed to play this role with those specifications. The GeneXpert assay is an automated molecular diagnostic test for TB. It can at the same time identify *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) complex DNA and transformations related to rifampicin (RIF) resistance [5,6]. In this study, our goal was to assess the precision of the GeneXpert test in the diagnosis of pulmonary TB.

Patients and methods

This cross-sectional analytic study was carried out at Assiut University Hospital in collaboration with Assiut Chest Hospital, Assiut, Egypt. The patients were

selected from those who sought medical advice at the Chest Outpatient Clinic of Assiut University Hospital from October 2016 to January 2018 after having agreed to participate. Our survey was approved by the Ethics Committee, Faculty of Medicine, Assiut University. Patients were suspected to have pulmonary TB based on the clinical data (e.g. prolonged cough, hemoptysis, night fever, night sweating, anorexia, and weight loss), the relative laboratory tests result (e.g. blood picture and erythrocyte sedimentation rate), and the radiological findings. Excluded from this study were patients suspected to have extrapulmonary TB, patients who proved to be tuberculous and started antituberculous treatment as well as those for whom we were unable to obtain appropriate spontaneous samples to be examined. All studied patients were subjected to thorough medical history, full clinical examination, and chest radiography. In addition some laboratory tests were performed such as complete blood picture and erythrocyte sedimentation rate. For microbiological examination, two sputum samples were obtained from

This is an open access journal, and articles are distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 License, which allows others to remix, tweak, and build upon the work non-commercially, as long as appropriate credit is given and the new creations are licensed under the identical terms.

PROSEDUR PEMERIKSAAN TB MENGGUNAKAN TCM

A. PRA-ANALISIS

1. Prosedur Pengumpulan Spesimen Dahak

- a. Sediakan pot dahak bertutup minimal 4 botol berulir, baru, bersih, dan bermulut lebar ($\pm$ diameter 5cm).
- b. Tuliskan nama pasien dan nomor identitas spesimen dahak pada dinding pot dahak sesuai dengan aturan penamaan pedoman nasional. **JANGAN** lakukan penulisan identitas pasien pada tutup pot dahak.
- c. Pengumpulan spesimen dahak dilakukan di tempat khusus berdahak (sputum booth) yang terdapat di ruang terbuka, mendapat sinar matahari langsung, terdapat wastafel, sabun cuci tangan, tempat sampah infeksius, tisu, dan tidak dilalui banyak orang.
- d. Bila memakai gigi palsu, lepaskan sebelum berkumur.
- e. Kumur dengan air minum sebelum mengeluarkan dahak.
- f. Tarik napas dalam sebanyak 2-3 kali dan setiap kali hembuskan napas dengan kuat.
- g. Letakkan pot dahak yang sudah dibuka dekat dengan mulut.
- h. Batukkan dengan keras dari dalam dada dan keluarkan dahak ke dalam pot. Tutup langsung pot dahak dengan rapat. Hindari terjadinya tumpahan atau mengotori bagian luar wadah dan kemudian kencangkan tutup pada wadah pengumpulan. Pemeriksaan TCM membutuhkan volume dahak minimal 1 ml.
- i. Bersihkan mulut dengan tisu dan buang tisu pada tempat sampah tertutup yang sudah disediakan.
- j. Cuci tangan dengan sabun dan antiseptik.

2. Hal-hal yang perlu diperhatikan untuk menilai kualitas dahak:

- a. Periksa kekentalan, warna, dan volume dahak. Dahak yang baik untuk pemeriksaan adalah berwarna kuning kehijau–hijuan (mukopurulen), dan kental.

- b. Hindari menggunakan spesimen dahak yang mengandung sisa makanan atau partikel padat lainnya. Apabila tidak memungkinkan untuk mendapatkan spesimen baru, lakukan pengolahan spesimen dan ambil bagian yang tidak bercampur dengan sisa makanan atau partikel padat lainnya.
3. Prosedur Pengumpulan Spesimen Non-Dahak

Cara pengambilan spesimen non dahak mengacu kepada SPO masing-masing rumah sakit.
4. Prosedur Preparasi Spesimen Dahak

Pastikan alat TCM telah menyala dan status modul adalah *available* sebelum melakukan pengolahan spesimen untuk pemeriksaan TCM. Petugas laboratorium wajib mengenakan APD selama bekerja di laboratorium. Prinsip pencegahan dan pengendalian infeksi (PPI) dalam pengolahan spesimen harus diterapkan.

Spesimen Dahak

Spesimen dahak dapat berupa dahak yang dikeluarkan langsung atau dengan cara invasif (seperti induksi dan suction). Pengolahan spesimen dahak dapat dilakukan di tempat yang sama untuk pengolahan dan pewarnaan mikroskopis. Apabila di laboratorium pelaksana TCM tersedia Biological Safety Cabinet (BSC), maka direkomendasikan untuk dapat mengolah spesimen di dalam BSC.

Berikut adalah prosedur pengolahan spesimen dahak:

- a. Beri label identitas pada setiap katrid. Identitas spesimen dapat ditempel atau ditulis pada bagian sisi katrid. JANGAN memberikan label pada bagian barcode.
- b. Bukalah penutup pot dahak, tambahkan Sample Reagent yang sudah tersedia sebanyak 2 kali volume spesimen.



Gambar 1 Sample Reagent dan Prosedur Umum Pengolahan Spesimen

1. Campur Sample Reagent dengan sampel, kocok, dan inkubasi
2. Masukkan spesimen ke dalam katrid
3. Masukkan katrid yang sudah berisi spesimen ke dalam alat TCM

Catatan :

- 1 Sample Reagent untuk pengolahan 1 spesimen dahak.
- Apabila volume dahak >4 ml, maka disarankan untuk membagi spesimen menjadi 2 bagian dan harus dilakukan dalam BSC. Satu bagian digunakan untuk pemeriksaan TCM, satu bagian lainnya disimpan dalam pot dahak baru sebagai cadangan.

- c. Tutup kembali pot dahak, kemudian kocok dengan kuat sampai campuran dahak dan *Sample Reagent* menjadi homogen.
- d. Diamkan selama 10 menit pada suhu ruang.
- e. Kocok kembali campuran, lalu diamkan selama 5 menit.
- f. Bila masih ada gumpalan, kocok kembali agar campuran dahak dan *Sample Reagent* menjadi homogen sempurna dan biarkan selama 5 menit pada suhu kamar.
- g. Buka penutup katrid, kemudian buka tempat penampung spesimen. Gunakan pipet yang disediakan untuk memindahkan spesimen dahak yang telah diolah sebanyak 2 ml (sampai garis batas pada pipet) ke dalam katrid secara perlahan-lahan untuk mencegah terjadinya gelembung yang bisa menyebabkan eror.
- h. Tutup katrid secara perlahan dan masukan katrid ke dalam alat TCM.

Catatan:

- Spesimen yang sudah diolah dan masuk ke dalam katrid harus segera dimasukkan ke dalam alat TCM. Saat mengolah beberapa spesimen dalam satu waktu, pengisian spesimen ke dalam katrid dilakukan satu persatu. Tutup katrid terlebih dahulu sebelum mengisi katrid berikutnya.

- Jika terdapat sisa spesimen yang telah diolah, spesimen tersebut dapat disimpan selama 5 jam jika dibutuhkan pemeriksaan ulang.

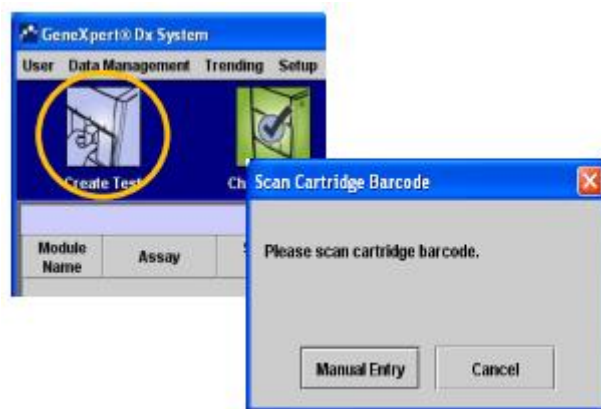
B. ANALISIS

1. Prosedur Umum Persiapan Katrid

Jika spesimen telah diolah dan dimasukkan ke dalam katrid, maka pemeriksaan harus dilakukan dalam kurun waktu 4 jam. Saat mengolah beberapa spesimen dalam satu waktu, pengisian spesimen ke dalam katrid dilakukan satu persatu. Tutup katrid terlebih dahulu sebelum mengisi katrid berikutnya.

2. Prosedur Umum Membuat Pemeriksaan TCM

- Pastikan komputer dan alat TCM telah menyala serta telah menjalankan program GeneXpert Dx.
- Pada halaman utama GeneXpert® Dx System, klik “Create Test”, maka akan muncul kotak dialog “*Please scan katrid barcode*”



Gambar 2 Tampilan kotak dialog saat menjalankan Create Test

- Pindai barcode katrid menggunakan barcode scanner dengan cara menekan tombol warna kuning pada barcode scanner atau pilih ‘Manual Entry’ untuk memasukkan 16 digit nomor seri katrid.



Gambar 3 Memasukkan barcode katrid

- 3.A Memasukkan barcode katrid dengan cara memindai barcode;
- 3.B Posisi 16 digit nomor seri katrid yang dapat dimasukkan secara manual.

- d. Setelah nomor seri katrid masuk, masukkan: NIK pada kolom Patient ID dan bila tidak ada maka menggunakan no.identitas sediaan. Pada kolom sample ID masukkan No urut register TB 04_Nama_umur. Bagian “Select Module” akan terisi secara otomatis, petugas lab tidak perlu mengubahnya. Kemudian klik “Start Test”.

Gambar 4 Tampilan jendela Create Test dan contoh cara pengisian

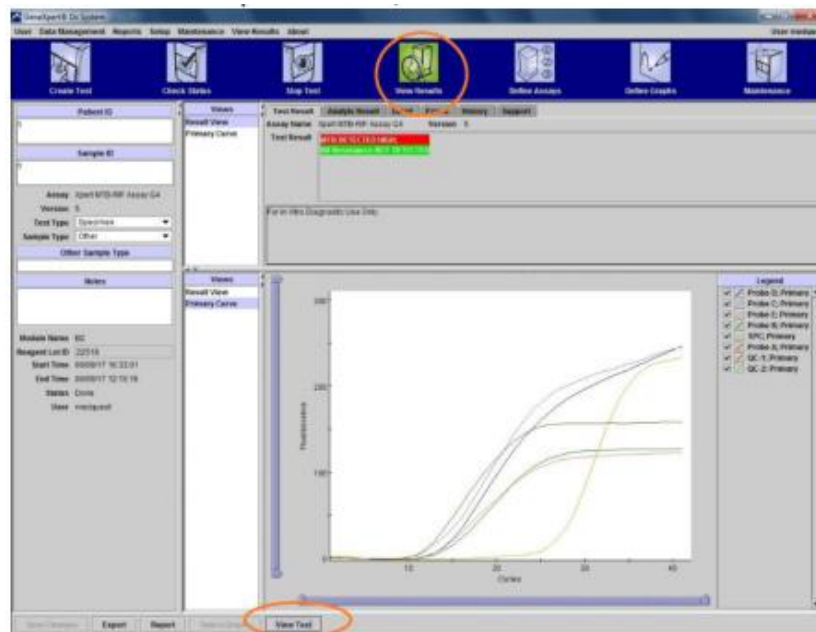
- e. Lampu warna hijau di alat TCM akan berkedip-kedip pada modul yang terpilih otomatis. Buka pintu modul dan letakkan katrid TCM.
- f. Tutup pintu modul dengan sempurna hingga terdengar bunyi klik. Pemeriksaan akan dimulai dan lampu hijau akan tetap menyala tanpa berkedip. Pemeriksaan akan berlangsung kurang lebih 2 jam. Saat pemeriksaan selesai, lampu akan mati secara otomatis dan pintu modul akan terbuka secara otomatis.

- g. Buka pintu modul dan keluarkan katrid. Katrid yang telah dipakai harus dibuang ke tempat sampah infeksius sesuai dengan SOP yang diterapkan oleh masing-masing institusi.

C. PASCA-ANALISIS

1. Cara Menampilkan Hasil Pemeriksaan

Petugas dapat melihat hasil pemeriksaan dengan cara klik “View Result” pada menu GeneXpert Dx, maka secara umum akan muncul jendela. Untuk memilih hasil pemeriksaan, maka klik “View Test”.



Gambar 5 Tampilan jendela View Result pada pengguna dengan Account Detail dan Administrator

Setelah klik “View Test”, maka akan muncul kotak dialog “Select Test To Be Viewed”. Pilih pemeriksaan yang diinginkan, kemudian klik “OK”, maka hasil pemeriksaan akan muncul. Adapun tampilan jendela View Result yang muncul dapat berbeda tergantung dari tipe account pengguna.

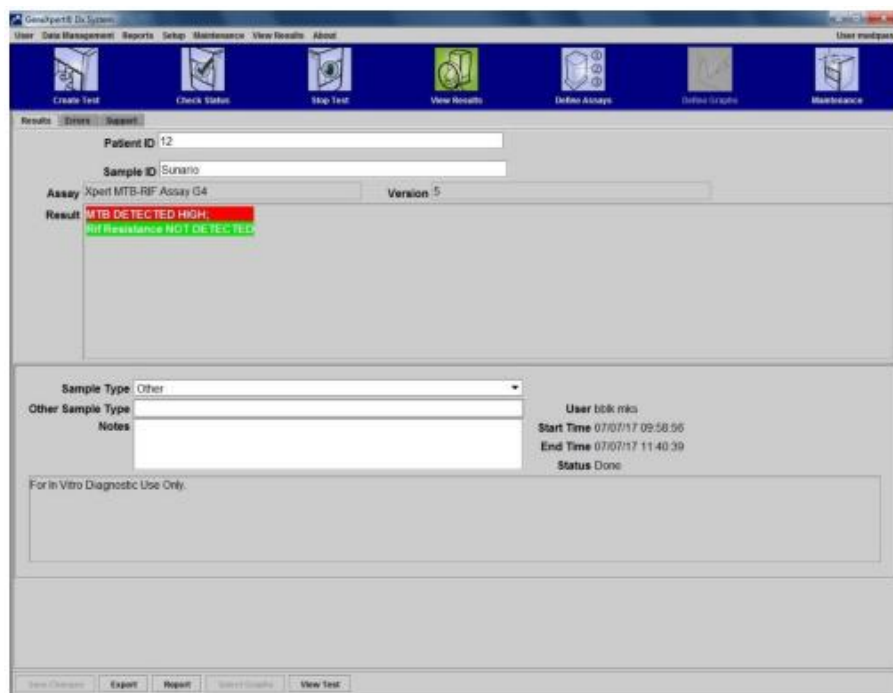
2. Tampilan Pada Pengguna Dengan Basic Account

Pengguna dengan Basic Account hanya dapat melihat tiga tab pada kotak View Results: Results, Error, dan Support.

Pada Tab Results, petugas dapat melihat:

- a. ID pasien (dapat diedit oleh petugas)

- b. ID sampel (dapat diedit oleh petugas)
- c. Assay—nama assay
- d. Version—nomor versi assay yang digunakan
- e. Result
- f. User—nama petugas
- g. Sample type—menu dropdown yang dapat diedit
- h. Other sample type
- i. Notes—dapat diedit. Digunakan apabila memiliki catatan khusus terhadap sampel yang diperiksa
- j. Start time—menampilkan waktu saat pemeriksaan dimulai
- k. End time—menampilkan waktu saat pemeriksaan selesai
- l. Status—status pemeriksaan
- m. Disclaimer—menampilkan pernyataan mengenai keterbatasan pemeriksaan



Gambar 6 Tampilan jendela View Result, tab Result, pada pengguna dengan basic account

Sumber : Kemenkes, 2017

Lampiran 17

PROSEDUR PEMERIKSAAN TB MENGGUNAKAN TES MIKROSKOPIS

A. Waktu Pengambilan Dahak

Pemeriksaan laboratorium untuk diagnosis dan *follow up* memerlukan masing-masing 2 (dua) contoh uji dahak, terdiri dari:

1. S (Sewaktu, pertama): Dahak dikumpulkan saat datang pada kunjungan pertama ke laboratorium fasyankes
2. P (Pagi): Dahak dikumpulkan pagi segera setelah bangun tidur pada hari ke-2, dibawa langsung oleh pasien ke laboratorium fasyankes

B. Cara Berdahak

1. Kumur-kumur dengan air bersih sebelum mengeluarkan dahak
2. Bila memakai gigi palsu, lepaskan sebelum berkumur
3. Tarik nafas dalam (2-3 kali)
4. Buka tutup pot, dekatkan ke mulut, berdahak dengan kuat dan ludahkan ke dalam pot dahak
5. Tutup pot yang berisi dahak dengan rapat
6. Pasien harus mencuci tangan dengan air dan sabun antiseptik

C. Pemilihan Contoh Uji yang purulen/kental

1. Pilih dahak yang kental berwarna kuning kehijauan.
2. Ambil dengan lidi yang ujungnya berserabut (rough end) kira-kira sebesar biji kacang hijau. Untuk mendapatkan ujung yang berserabut lidi dipipihkan dengan menggunakan tang.
3. Letakkan pada kaca objek yang sudah disiapkan.

D. Peralatan Pemeriksaan Sediaan Dahak

1. Kaca sediaan yang baru dan bersih, sebaiknya frosted end slide.
2. Bambu/lidi/ tusuk gigi
3. Tang
4. Pensil 2B
5. Lampu spritus/ Bunsen
6. Pinset
7. Wadah pembuangan lidi bekas+ desinfektan

8. Desinfektan (lisol 5%, Alkohol 70%, Hipoklorit 0,5%)

E. Memberikan Identitas sediaan

Sebelum melaksanakan pembuatan sediaan dahak, terlebih dulu kaca sediaan yang diberi identitas dengan menuliskan pada bagian frosted dengan pensil 2B atau diberi label (jika menggunakan kaca sediaan non-frosted) dengan nomor identitas sesuai dengan Form TB 05 Nomor Identitas Sediaan = 2 digit/7-11 digit/1digit/4digit_

Keterangan:

- 2 digit = tahun
- 7-11 digit = 7 untuk RS, 11 untuk Puskesmas
- 1 digit = 1 untuk terduga TB SO, 2 untuk terduga TB RO
- 4 digit = no urut TB .06
- “ _ ” = kode huruf sesuai waktu pengambilan dahak

F. Cara Pembuatan Sediaan

1. Ambil contoh uji dahak pada bagian yang purulent dengan lidi yang telah dipipihkan ujungnya dengan tang.
2. Sebarkan diatas kaca sediaan dengan bentuk oval ukuran 2x3 dan ratakan dengan tusuk gigi membentuk spiral kecil-kecil. Jangan membuat gerakan spiral bila sediaan dahak sudah kering karena akan menyebabkan aerosol.
3. Keringkan pada suhu kamar dan masukkan lidi serta tusuk gigi bekas ke dalam wadah yang dilapisi plastik (di bagian dalam) berisi desinfektan
4. Fiksasi dilakukan dengan memegang kaca sediaan dengan pinset, pastikan kaca sediaan menghadap ke atas. Lewatkan sediaan di atas api bunsen yang berwarna biru 2- 3 kali selama 1-2 detik

G. Pewarnaan Metode Ziehl Neelsen

Reagensia yang diperlukan untuk pewarnaan metode ZN

- a. Karbol fuchsin 1 %
- b. Asam Alkohol 3 %
- c. Metilen blue 0,1 %

Peralatan yang diperlukan untuk pewarnaan Ziehl Neelsen

- a. Rak pewarnaan
- b. Pinset/ Penjepit kayu
- c. Air mengalir/ botol semprot air

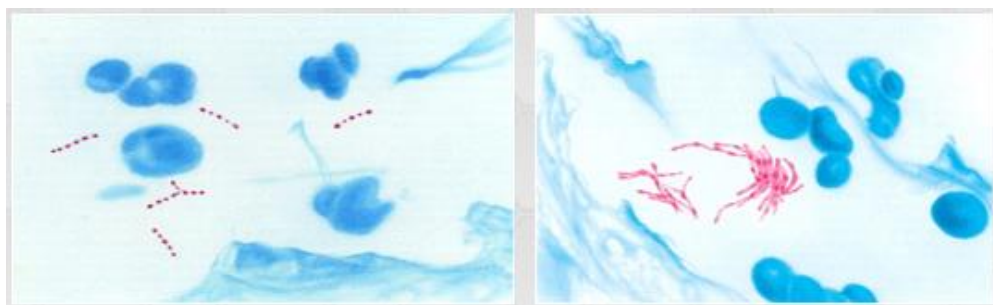
- d. Sulut api
- e. Rak pengering
- f. Pengatur waktu/ timer
- g. Corong & Kertas Saring
- h. Kain Basah

Cara melakukan pewarnaan metode ZN

- a. Letakkan sediaan diatas rak dengan jarak 1 jari
- b. Sediaan ditetesi larutan Carbol Fuchsin 1% melalui corong yang dilapisi kertas saring, dimulai dari ujung kaca sediaan hingga menutupi seluruh permukaan kaca sediaan.
- c. Panaskan sediaan dengan sulut api sampai keluar uap (jangan sampai mendidih), kemudian dinginkan selama 10 menit. Sulut api dibuat dari kawat baja yang ujungnya dililit sumbu kompor/kain kasa yang diikat kawat halus celupkan ke dalam spiritus sebelum dinyalakan. Matikan sulut api dengan menggunakan kain basah.
- d. Bilas sediaan secara perlahan dengan air mengalir, jangan menyiramkan atau menyembprotkan air tepat pada apusan. Buang sisa air pada sediaan
- e. Tuangkan methylene blue 0.1% hingga menutupi seluruh sediaan dan biarkan selama 1 menit. Bilas dengan air mengalir.
- f. Tuangkan methylene blue 0,1 % hingga menutupi seluruh sediaan dan biarkan selama 1 menit. Bilas dengan air mengalir. Keringkan sediaan pada rak pengering.

Kualitas pewarnaan Ziehl Neelsen

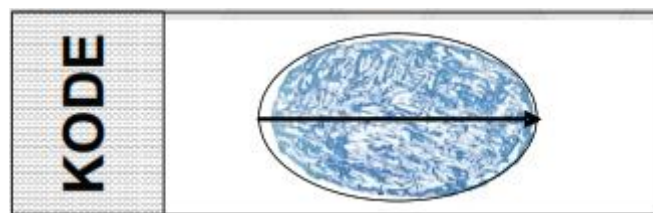
Pada pewarnaan yang baik, apabila diperiksa di bawah mikroskopis akan tampak bakteri tahan asam (BTA) berwarna merah baik sendiri atau bergerombol dengan warna latar biru dan terlihat jelas gambaran leukosit.



Pada pewarnaan yang jelek, apabila diperiksa di bawah mikroskop masih tampak adanya sisa zat warna, endapan kristal sehingga BTA tidak tampak dengan jelas

H. Pembacaan 100 LP

Pembacaan sediaan dahak menggunakan mikroskop dengan lensa objektif 10× untuk menentukan fokus kemudian pada lensa objektif 100×. Dilakukan pembacaan di sepanjang garis horisontal terpanjang dari ujung kiri ke ujung kanan atau sebaliknya. Dengan demikian akan dibaca minimal 100 lapang pandang.



BTA akan tampak sebagai kuman berwarna merah baik sendiri maupun bergerombol. BTA harus dibedakan dengan artefak yang mirip dengan BTA dan BTA lingkungan yang sering mencemari air keran.

I. Pelaporan Skala IUATLD

Pelaporan hasil pemeriksaan mikroskopis dengan mengacu kepada skala *International Union Against Tuberculosis and Lung Disease* (IUATLD)

Negatif : tidak ditemukan BTA dalam 100 lapang pandang

Scanty : ditemukan 1-9 BTA dalam 100 lapang pandang (tuliskan jumlah BTA yang ditemukan)

1+ : ditemukan 10 – 99 BTA dlm 100 lapang pandang

2+ : ditemukan 1 – 10 BTA setiap 1 lapang pandang (periksa minimal 50 lapang pandang)

3+ : ditemukan ≥ 10 BTA dalam 1 lapang pandang (periksa minimal 20 lapang pandang)

Sumber : Kemenkes, 2017

Lampiran 18

PROSEDUR PEMERIKSAAN TB MENGGUNAKAN KULTUR

A. Pembuatan Media Lowenstein-Jensen

Alat dan bahan yang diperlukan untuk membuat media:

Alat:

- a. Timbangan analitik
- b. Spatula / sendok
- c. Gelas ukur 1000 ml steril
- d. Gelas beaker 1000 ml steril
- e. Pipet 10 ml, 25 ml steril
- f. Labu Erlenmeyer 250 ml, 1000 ml steril
- g. Botol McCartney
- h. Bunsen
- i. Power pipet/pipetor
- j. pH meter
- k. Otoklaf
- l. Inspisator/ Hot Air Oven
- m. Blender stainless steel
- n. Magnetic stirrer & magnetic bar steril
- o. Corong steril
- p. Kain kasa steril
- q. Lap pembersih telur

Bahan:

- a. Bahan dasar Medium LJ dengan komposisi :
 - 1. Potassium dihydrogen phosphate : 2,5 gr
 - 2. Magnesium sulfate heptahydrate : 0,24 gr
 - 3. Tri-magnesium dicitrate 14-hydrate : 0,6 gr
 - 4. L-asparagin : 3,6 gr
 - 5. Potato meal : 30 gr
 - 6. Malachite green 2 % : 20 ml
- b. Aquadest : 600 ml
- c. Glyserol : 12 ml
- d. Telur homogen sampai dengan : 1000 ml

Cara Pembuatan Media LJ:

- a) Homogenisasi telur:
 - 1. Bersihkan telur ayam/bebek segar yang berumur tidak lebih 7 hari dengan cara menggosoknya dengan lap, air dan sabun.
 - 2. Bilas dengan air mengalir hingga bersih, kemudian keringkan
 - 3. Rendam dalam alkohol 70% selama 15 menit
 - 4. Cuci dan desinfeksi tangan sebelum memegang telur yang telah bersih dan kering
 - 5. Pecahkan telur dan tampung dalam gelas ukur steril
 - 6. Homogenisasi dengan blender, atur kecepatan sedemikian rupa agar tidak terbentuk gelembung.
 - 7. Saring larutan telur menggunakan corong steril yang telah dialasi kasa steril.
 - 8. Ukur dengan gelas ukur steril sampai didapatkan 1 liter.
 - 9. Catatan :
 - a. Tidak diperkenankan menggunakan telur dari peternakan yang menggunakan antibiotika dalam pakannya. Karena umumnya peternakan bebek dilakukan secara tradisional, telur bebek lebih kecil kemungkinannya mengandung antibiotika.
 - b. Homogenisasi telur agar dilakukan dalam laminar flow/ BSC, untuk meminimalisasi pencemaran oleh mikroba udara.

b) Pembuatan media LJ :

1. Larutkan garam-garam, L-Asparagine (dan potato meal) media LJ dalam 600 ml aquades, pH 6.8-7.0
2. Tambahkan 12 ml glycerol
3. Tambahkan 20 ml larutan malachite green 2%
4. Setelah tercampur sempurna, sterilkan dalam otoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C
5. Dinginkan sampai suhu $\pm 50^{\circ}\text{C}$
6. Tambahkan telur homogen 1 liter yang telah dipersiapkan secara steril, aduk perlahan-lahan, hindari terbentuknya gelembung. Jika ada gelembung, diamkan beberapa waktu lamanya untuk menghilangkan gelembung.
 - a. Tuangkan ke dalam botol McCartney steril sebanyak 6 – 8 ml.
 - b. Tutup botol dengan longgar dan letakkan pada kemiringan 30 dalam inspikator yang telah dipanaskan sampai suhu 85°C selama 45 menit (lakukan optimasi inspikator) Keluarkan dari inspikator, tutup botol dikencangkan dan diamkan sampai suhu kamar
 - c. Bila kualitas media tidak baik : terlalu lembek, terjadi perubahan warna, berlubang-lubang, atau terdapat gelembung-gelembung pada permukaan, maka media tersebut tidak dapat dipakai.

Catatan :

1. Media LJ dapat memakai potato meal atau tidak
2. Jika membuat dari media komersial, ikuti petunjuk dari pabrik
3. Untuk membuat larutan malachite green tersendiri. Lakukan sebagai berikut
 - a. Timbang 2 gram Malachite green kristal dalam gelas kimia.
 - b. Tuang ke dalam mortir, gerus sampai halus, masukkan kembali ke dalam gelas kimia dan tambah aquadest 100 ml.
 - c. Masukkan magnetic stirrer, tempatkan di atas stirring hot plate, incubator selama 2 jam atau suhu kamar semalaman agar larut sempurna
 - d. Saring dengan kertas saring Whatmann no 4.
 - e. Simpan dalam botol coklat, catat tanggal pembuatan pada label.

- f. Larutan tahan 1 bulan pada suhu kamar, tetapi sebaiknya digunakan dalam waktu 1 minggu

B. Biakan *Mycobacterium tuberculosis*

Alat dan bahan yang diperlukan:

1. Untuk pengolahan bahan pemeriksaan
 - a. Tabung sentrifus 50 ml
 - b. Rak tabung
 - c. Biocontained-centrifuge pada gaya gravitasi 3000 g (bukan 3000 rpm)
2. Untuk inokulasi
 - a. Media LJ
 - b. Pipet pasteur steril atau mikropipet 100 ul
 - c. Tip mikropipet
3. Inkubator
4. BSC Class II

Cara pengolahan dahak

1. Dahak tanpa CPC diolah sebagai berikut:
 - a. Pembuatan larutan NaOH 4% (1 N)
 - 1) Timbang 4 g pelet NaOH kering (jangan biarkan botol NaOH terbuka karena NaOH sangat higroskopis). Gunakan APD (kaca mata, lab jas, sarung tangan) saat menimbang NaOH karena NaOH bersifat kaustik kuat.
 - 2) Masukkan ke dalam beaker yang berisi 100 ml akuades. Beaker akan menjadi panas.
 - 3) Biarkan menjadi dingin
 - 4) Pindahkan ke dalam botol dan masukkan ke dalam otoklaf 121° C selama 15 menit. Volume NaOH tiap botol usahakan tidak lebih dari 100 ml
 - 5) Simpan di suhu ruang
 - b. Pembuatan 0.067 M PBS pH 6.8
 - 1) Timbang Na₂HPO₄ anhidrat 9.47 g, larutkan dalam 1000 ml aquades atau timbang Na₂HPO₄.12H₂O 23.68 gr dan dilarutkan dengan 1000 ml aquadest

- 2) Timbang 9.07 g KH_2PO_4 , larutkan dalam 1000 ml aquades, campur, masukkan dalam botol bertutup ulir.
- 3) Atur pH dengan menambahkan sedikit asam atau basa agar mencapai pH 6.8
- 4) Otoklaf 121°C selama 15 menit, dinginkan di suhu ruang, simpan di lemari Es

c. Pengolahan dengan NaOH 4%

- 1) Tuangkan dahak ke dalam tabung sentrifus 50 ml. Jika lebih dari 10 ml, pilih 10 ml bagian yang purulen.
- 2) Tambahkan NaOH 4% sama banyak
- 3) Campur dengan vortex mixer sampai homogen. Diamkan dalam suhu ruang tidak lebih dari 15 menit (jika lebih lama, kuman akan mati)
- 4) Tambahkan larutan PBS sampai volumen > 45 ml dengan menggunakan pipet. (Jika menuang PBS dari botol, gunakan botol dengan volumen 100 ml, buang sisa PBS.)
- 5) Tutup tabung dengan rapat, sentrifus minimal 3000 g selama 15-20 menit
- 6) Tuangkan supernatan ke dalam wadah berisi desinfektan. Usap bibir tabung dengan 95% etanol (jangan sampai masuk ke dalam tabung).
- 7) Tambahkan 1 ml PBS ke dalam sedimen, kocok agar homogen.
- 8) Olahan contoh uji siap diinokulasikan. Jangan lupa membuat sediaan untuk diwarnai dengan ZN pada sisa inoculum

d. Pengolahan dengan dengan N-Acetyl –L-cystein-NaOH(NALC-NaOH)

- 1) Tuang contoh uji ke dalam tabung sentrifus 50 ml
- 2) Ditambah NALC – NaOH sama banyak
- 3) Kocok sampai homogen, tidak lebih dari 30 detik dan diamkan selama 15 menit pada suhu kamar.
- 4) Tambah PBS sampai volume 45 ml. Bolak-balik tabung beberapa kali
- 5) Timbang agar posisi pada waktu sentrifus seimbang.
- 6) Centrifuge selama 20 menit, 4°C , 3000 g

- 7) Buang supernatant kemudian ditambah 1 ml PBS
- 8) Inokulasi pada 2 media LJ sebanyak 100 μ l (4 tetes pipet plastik vol 1 ml)
- 9) Inkubasi pada suhu 37°C

Catatan :

Pembuatan larutan Natrium sitrat

- i. Timbang 29 g Natrium sitrat dihidrat atau 26 g Na-sitrat anhidrat, larutkan dalam 1000 ml aquades
- ii. Buat larutan NaOH 4% seperti di atas
- iii. Campur sama banyak larutan Natrium sitrat dan NaOH.
- iv. Otoklaf 121°C selama 15 menit. Dinginkan di suhu ruang
- v. Simpan di lemari es

Larutan NALC-NaOH dibuat sbb:

Larutan ini harus selalu dibuat baru setiap kali akan melakukan pemeriksaan (tidak bisa disimpan > 24 jam). Pembuatan sesuai kebutuhan, dan sesuai dengan tabel:

ml	N-Acetyl cystein (gr)	Stok A (ml) NaOH 4%	Stok B (ml) Na Citrat 2,9%
5	0,025	2,5	2,5
50	0,25	25	25
100	0,5	50	50

2. Dahak dengan CPC diolah sebagai berikut:
 - a. Tuangkan dahak yang sudah bercampur CPC ke dalam tabung sentrifus.
 - b. Campur sampai homogen dengan menggunakan vortex, tunggu 10 menit agar tidak terjadi aerosol. Dahak yang telah seluruhnya mencair dan homogen, tak perlu di vortex
 - c. Tambahkan PBS steril sampai tanda batas tertinggi pada tabung sentrifus.
 - d. Sentrifus pada 3000 g selama 15 menit, tunggu/diamkan sampai 15 menit
 - e. Buang supernatan.
 - f. Campur endapan dengan menggunakan vortex, tunggu 10 menit agar tidak terjadi aerosol.

- g. Tambahkan PBS dengan pH 7,2 sampai tanda batas tertinggi pada tabung sentrifus.
- h. Sentrifus pada 3000 g selama 15 menit , tunggu/diamkan sampai 15 menit.
- i. Buang supernatan.
- j. Tambahkan 1ml larutan PBS pH 7,2, campur sampai homogen dengan menggunakan vortex, diamkan 10 menit untuk menghindari adanya aerosol.
- k. Sedimen siap digunakan untuk diinokulasikan pada media.

Inokulasi bahan pada media:

1. Pipet 100 ul sedimen ke dalam media LJ, buat duplo
2. Tutup botol, tetapi jangan terlalu rapat
3. Sebar secara merata bahan pemeriksaan tersebut di atas permukaan media dengan cara menggerak-gerakkan botol
4. Letakkan botol-botol pada rak dengan kemiringan 30°C selama 24 jam pada incubator dengan suhu 35 - 37°C
5. Setelah 24 jam, kencangkan tutup botol dan letakkan botol pada rak tabung dengan posisi tegak dan lanjutkan inkubasi.
6. Amati pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis* setiap minggu.

Pengamatan dilakukan sampai 8 minggu. Hasil negatif dinyatakan jika tak ada pertumbuhan setelah 8 minggu. Untuk contoh uji yang berasal dari kasus yang telah mendapat OAT atau *pausibasiler*, dianjurkan diinkubasi sampai 12 minggu.

Tanda khas koloni *Mycobacterium tuberculosis* adalah :

- a. Akan tampak pertumbuhan dalam waktu 2 – 4 minggu
- b. Koloni bewarna putih kekuning-kuningan (*buff coloured*), permukaan kering dan rapuh dengan tepi yang tidak beraturan (seperti bunga kol)
- c. Konfirmasi dengan membuat sediaan dari koloni dengan pewarnaan Ziehl Neelsen. *Mycobacterium tuberculosis* akan memberikan gambaran BTA yang bergerombol berbentuk khas (*serpentine cord*, *typical cord*). Bila hasil BTA negatif, tidak dilanjutkan dengan subkultur
7. Lakukan pengamatan pertumbuhan koloni setiap minggu

8. Catat hasil pengamatan setiap minggu pada buku catatan biakan
Pembacaan Hasil Biakan

PEMBACAAN	PENCATATAN
> 500 koloni	4 +
200 – 500 koloni	3 +
100 – 200 koloni	2 +
20 – 100 koloni	1 +
1 – 19 koloni	Jumlah koloni
Tidak ada pertumbuhan	Negatif

Keterangan :

- Bila terdapat kontaminasi pada biakan, laporkan segera dan ulangi pembuatan biakan
- Bila biakan POSITIF dan pertumbuhan dinilai sebagai *Mycobacterium tuberculosis*, laporkan segera pada pihak yang berkepentingan
- Pada minggu ke 4 dapat dibuat laporan sementara
- Pada minggu ke 8 dibuat laporan akhir (final)

Sumber : Kemenkes, 2012

**PERBANDINGAN UJI VALIDITAS TES CEPAT MOLEKULER GeneXpert MTB/RIF
DAN TES MIKROSKOPIS TERHADAP KULTUR DALAM MENDETEKSI
Mycobacterium tuberculosis
(Studi Pustaka)**

**Egia Vanesha Laina
Program Studi Teknologi Laboratorium Medis, Program Sarjana Terapan,
Jurusan Analis Kesehatan
Politeknik Kesehatan Tanjungkarang**

ABSTRAK

Tuberkulosis adalah penyakit menular yang disebabkan oleh bakteri *Mycobacterium tuberculosis*. Untuk menegakkan diagnosis pada tuberkulosis, dilakukan pemeriksaan laboratorium untuk menemukan BTA positif seperti pemeriksaan tes mikroskopis, tes cepat molekuler (TCM) GeneXpert MTB/RIF, dan kultur. Setiap metode dilakukan uji validitas untuk melihat kemampuan tes memisahkan orang yang benar sakit terhadap orang yang tidak sakit atau melihat besarnya kemungkinan untuk menempatkan individu pada keadaan sebenarnya. Penelitian ini bertujuan mengetahui perbandingan uji validitas (sensitivitas, spesifisitas, *Negative Predictive Value*/NPV, dan *Positive Predictive Value*/PPV) TCM GeneXpert dan tes mikroskopis terhadap kultur dalam mendeteksi *Mycobacterium tuberculosis*. Jenis penelitian adalah Studi pustaka. Bidang penelitian adalah Bakteriologi dan Biologi Molekuler. Berdasarkan hasil studi pustaka yang dilakukan pada 15 artikel penelitian (4 artikel nasional dan 11 artikel internasional) didapat bahwa pada tes mikroskopis, rentang sensitivitas sebesar 46,5-89,5%, spesifisitas sebesar 91,4-100%, PPV sebesar 80-100%, dan NPV sebesar 40,8-97%. Pada TCM GeneXpert, rentang sensitivitas sebesar 73,33-100%, spesifisitas sebesar 27,17-100%, PPV sebesar 25-100%, dan nilai NPV sebesar 62,2-100%. Seluruh hasil penelitian menyatakan TCM GeneXpert merupakan metode yang cepat dan memiliki sensitivitas yang lebih tinggi dibandingkan tes mikroskopis. Namun, penggunaan GeneXpert ini tetap perlu mengombinasikan tes lain seperti tes mikroskopis, kultur, dan pemeriksaan penunjang lainnya.

Kata Kunci : Validitas, GeneXpert, Mikroskopis, Kultur, *Mycobacterium tuberculosis*

**COMPARISON OF VALIDITY GeneXpert MTB/RIF MOLECULAR RAPID TEST AND
MICROSCOPY TEST WITH CULTURE FOR DETECTION OF
Mycobacterium tuberculosis
(LIBRARY RESEARCH)**

ABSTRACT

Tuberculosis is an infectious disease caused by *Mycobacterium tuberculosis*. For diagnosis of tuberculosis, laboratory tests are carried out to find positive smears such as microscopic tests, the GeneXpert MTB/RIF molecular rapid test, and culture. Validity to see the ability of the test to separate people who are really sick from people who are not sick or see the possibility of placing individuals in the real situation. This study determine the comparison of the validity test (sensitivity, specificity, *Negative Predictive Value*/NPV, and *Positive Predictive Value*/PPV) of GeneXpert and microscopic test with culture in detecting *Mycobacterium tuberculosis*. The type of research is literature research. Research fields are Bacteriology and Molecular Biology. Based on the results of a literature study conducted on 15 research articles (4 national articles and 11 international articles) it was found that in microscopic tests, the sensitivity range is 46.5-89.5%, specificity is 91.4-100%, PPV is 80- 100%, and NPV is 40.8-97%. In GeneXpert, the sensitivity range is 73.33-100%, specificity is 27.17-100%, PPV is 25-100%, and NPV is 62.2-100%. All research results state that GeneXpert is a fast method and has a higher sensitivity than microscopic tests. However, the use of GeneXpert still needs to combine other tests such as microscopic tests, culture, and other investigations.

Keywords: Validity, GeneXpert, Microscopy, Culture, *Mycobacterium tuberculosis*

Korespondensi: Egia Vanesha Laina, Program Studi Teknologi Laboratorium Medis, Program Sarjana Terapan, Politeknik Kesehatan Tanjungkarang, Jalan Soekarno-Hatta No. 1 Hajimena Bandar Lampung, *Mobile*: 085658949985, *Email*: egiavanesha@gmail.com

Pendahuluan

Tuberkulosis (TB) merupakan penyakit menular penyebab utama buruknya tingkat kesehatan masyarakat dan menjadi salah satu dari 10 penyebab kematian teratas di seluruh dunia. Hampir 90% kasus terjadi setiap tahunnya di 30 negara dengan beban TB tinggi. Secara global, pada tahun 2018 terdeteksi jumlah kasus TB sebanyak 7.264.491 kasus dan diprediksi akan meningkat setiap tahunnya (WHO, 2019).

Indonesia memiliki jumlah kasus TB sebanyak 570.289 kasus pada tahun 2018 (data dari WHO 2019). Berdasarkan data dan informasi profil kesehatan Indonesia tahun 2018, Provinsi Lampung masuk di dalam urutan ke sembilan dari daftar 20 besar provinsi dengan jumlah kasus sebanyak 15.570 kasus dan disusul oleh Riau sebanyak 11.135 kasus pada urutan ke sepuluh (Kemenkes, 2018).

Uji diagnostik pada penyakit TB untuk mendeteksi *Mycobacterium tuberculosis* menjadi amat penting sebagai *screening* dan pemantauan pengobatan. Deteksi *Mycobacterium tuberculosis* dapat dilakukan dengan teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR), pemeriksaan mikroskopik Basil Tahan Asam (BTA), dan kultur bakteri. Pemeriksaan *Mycobacterium tuberculosis* secara mikroskopik banyak digunakan di berbagai pelayanan kesehatan khususnya tingkat Puskesmas karena biaya operasional yang relatif murah dengan hasil yang cukup cepat sekitar 2 – 3 jam. Namun, pemeriksaan ini memerlukan jumlah bakteri tertentu, yaitu 5.000-10.000 bakteri/ml sputum sehingga tes ini dapat menyebabkan negatif palsu apabila kurang dari jumlah bakteri yang dibutuhkan (Desikan, 2013). Sedangkan kultur, meski dianggap sebagai standar emas dan hanya membutuhkan jumlah bakteri yang lebih sedikit, tetapi memiliki proses yang lama dan biasanya membutuhkan 6-8 minggu untuk menghasilkan hasil akhir (Naim, 2013).

Deteksi bakteri TB dengan teknik PCR menggunakan prinsip amplifikasi DNA, dalam hal ini DNA *Mycobacterium tuberculosis* secara *in vitro*. Proses ini memerlukan DNA cetakan (*template*) untai ganda yang mengandung DNA target, enzim DNA polymerase, nukleotida trifosfat, dan sepasang primer (Maksum, 2017). Jika dibandingkan dengan pemeriksaan kultur bakteri TB yang memerlukan waktu 6-8 minggu (Naim, 2013), pemeriksaan teknik PCR memerlukan waktu pemeriksaan yang relatif singkat (Maksum, 2017).

Organisasi Kesehatan Dunia (WHO) telah merekomendasikan Tes Cepat Molekuler (TCM) GeneXpert MTB/RIF untuk program TB nasional di negara berkembang. Tes Cepat Molekuler (TCM) GeneXpert merupakan pemeriksaan molekuler otomatis dan terintegrasi semua langkah *Polymerase Chain Reaction* (PCR) berdasarkan uji *Deoxyribonucleic Acid* (DNA) untuk mendeteksi bakteri tuberkulosis dan sekaligus mendeteksi resistensi bakteri tersebut terhadap rifampisin. Tes cepat ini berbasis *cartridge* dan dilakukan secara *real-time* sehingga hasil tes dapat diketahui dalam waktu kurang dari dua jam sehingga pasien tidak perlu terlalu lama menunggu hasil tes. Selain itu, keunggulan dari tes GeneXpert MTB/RIF adalah penggunaan tingkat biosafety rendah sehingga dapat mengurangi penggunaan fasilitas Biosafety (Kemenkes, 2017).

Dengan terus bertambahnya kasus TB di seluruh dunia, ini menyebabkan perlunya uji diagnostik dan skrining yang tepat, cepat, dan memiliki validitas yang cukup tinggi. Tujuan dari skrining adalah untuk mengurangi angka kejadian dan dalam hal ini yaitu kejadian TB. Salah satu kriteria dalam tes skrining/penapisan adalah validitas dan reliabilitas. Validitas adalah kemampuan daripada tes screening untuk mencerminkan secara tepat fakta atau keadaan sesungguhnya dari apa yang diukur (Akbar, 2018). Komponen yang menentukan tingkat validitas, yakni nilai sensitivitas dan spesifisitas. Kombinasi sensitivitas dan spesifisitas adalah penting dalam melakukan kegiatan tes skrining. Sensitivitas adalah bagaimana akuratnya suatu tes mengklarifikasikan orang sakit adalah benar-benar sakit pada kenyataannya, sedangkan spesifisitas adalah bagaimana akuratnya suatu tes yang mengklarifikasikan orang sehat adalah benar-benar sehat pada kenyataannya (Najmah, 2015).

Selain sensitivitas dan spesifisitas, validitas dapat ditentukan pula dari Nilai Prediksi Positif (NPP) dan Nilai Prediksi Negatif (NPN). Validitas prediktif (*predictive validity*, *prognostic validity*) merujuk kepada kesesuaian antara hasil pengukuran alat ukur sekarang dan hasil pengukuran standar emas di masa mendatang. Validitas prediktif terdiri dari Nilai Prediksi Positif (NPP)/*Positive Predictive Value* (PPV), dan Nilai Prediksi Negatif (NPN)/*Negative Predictive Value* (NPV). Nilai prediksi positif adalah persentase dari semua orang dengan hasil tes positif pada orang yang benar sakit, sedangkan nilai

prediksi negatif adalah persentasi dari semua orang dengan hasil tes negatif pada orang yang benar-benar sehat (Najmah, 2015). Oleh karena itu, perlu adanya penelitian dan evaluasi mengenai validitas metode untuk menentukan metode yang tepat dalam mendeteksi *Mycobacterium tuberculosis* yang merupakan penyebab penyakit TB.

Pada penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Monika Agrawal, dkk tahun 2016 didapat sensitivitas, spesifisitas, *Positif Predictive Value* (PPV) dan *Negative Predictive Value* (NPV) tes GeneXpert terhadap pemeriksaan kultur adalah 100%, 90%, 100%, dan 91,6% pada dahak. Sedangkan sensitivitas, spesifisitas, NPV, dan PPV tes mikroskopis pewarnaan Ziehl Neelsen (ZN) terhadap pemeriksaan kultur adalah 72,7%, 100%, 100%, dan 76,9% (Monika Agrawal, 2016). Sedangkan pada penelitian yang dilakukan oleh Ilhan Afsar, dkk tahun 2018, dilakukan perbandingan antara GeneXpert dengan kultur, dan didapat hasil sensitivitas, spesifisitas, NPV, dan PPV sebesar 96%, 99%, 86%, dan 99%. Sedangkan pada tes mikroskopis dibandingkan terhadap kultur didapatkan hasil sensitivitas, spesifisitas, NPV, dan PPV sebesar 53%, 100%, 100%, dan 98% (Ilhan Afsar, 2018). Dari hasil kedua penelitian ini saja, ditemukan perbedaan yang cukup bermakna pada nilai validitas GeneXpert jika dibandingkan dengan validitas tes mikroskopis dalam menemukan bakteri *Mycobacterium tuberculosis*.

Tujuan penelitian ini untuk mengetahui perbandingan uji validitas (sensitivitas, spesifisitas, *Negative Predictive Value*/NPV, dan *Positive Predictive Value*/PPV) tes cepat molekuler GeneXpert terhadap kultur dan tes mikroskopis terhadap kultur dalam mendeteksi *Mycobacterium tuberculosis*.

Metode

Studi kepustakaan (*Library Research*) menggunakan jenis penelitian kualitatif. Penelitian kualitatif merupakan penelitian untuk mengeksplorasi dan memahami makna yang oleh sejumlah individu atau kelompok orang dianggap berasal dari masalah sosial atau kemanusiaan. Proses penelitian kualitatif ini melibatkan upaya-upaya penting, seperti mengajukan pertanyaan, mengumpulkan data yang spesifik dari para partisipan, menganalisis data secara induktif mulai dari tema-tema yang khusus ke tema-tema umum, dan menafsirkan makna data (Kusumastuti, 2019). Waktu penelitian dalam studi kepustakaan dengan jenis penelitian kualitatif

dilaksanakan pada bulan Februari 2021 sampai dengan Juni 2021.

Sumber data yang menjadi bahan penelitian berupa artikel atau jurnal penelitian dari situs internet yang terkait dengan topik yang telah dipilih. Pencarian literatur dilakukan dengan menggunakan internet dengan situs *PubMED*, *Google Scholar*, *Researchgate*, dan *Science Direct*. Kata kunci yang digunakan dalam pencarian artikel yaitu *Real Time PCR GeneXpert*, *ZN Stain*, *Lowenstein Jensen (Culture)*, *Mycobacterium tuberculosis*. Setelah dilakukan pencarian dengan kata kunci, didapatkan sebanyak lebih dari 160 artikel di situs pencarian. Namun, artikel yang masuk ke dalam kriteria untuk menyusun konsep mengenai perbandingan validitas antara tes cepat molekuler *GeneXpert* dan mikroskopis terhadap kultur dalam mendeteksi *Mycobacterium tuberculosis* ditemukan sebanyak 15 artikel.

Teknik pengumpulan data dalam penelitian kepustakaan adalah dokumentasi, yaitu mencari data mengenai hal-hal atau variabel yang berupa catatan, buku, makalah atau artikel, jurnal dan sebagainya. Instrumen penelitian adalah alat-alat yang akan digunakan untuk pengumpulan data. Dalam penelitian kepustakaan ini, instrument yang dapat digunakan berupa jurnal ilmiah sebagai bahan penelitian. Teknik analisis data yang digunakan dalam penelitian berupa metode analisis isi (*Content Analysis*). Analisis ini digunakan untuk mendapatkan inferensi yang valid dan dapat diteliti ulang berdasarkan konteksnya.

Hasil

Berikut ini tabel hasil perbandingan nilai validitas tes cepat molekuler GeneXpert MTB/RIF dan tes mikroskopis terhadap kultur:

Tabel 1 Perbandingan Tes Mikroskopis dan Tes Cepat Molekuler GeneXpert MTB/RIF terhadap kultur sebagai *gold standar*

No	Penulis	Sampel	Kultur	TCM GeneXpert				Tes Mikroskopis			
				Sen (%)	Spe (%)	PPV (%)	NPV (%)	Sen (%)	Spe (%)	PPV (%)	NPV (%)
1	Monika Agrawal, dkk. (2016)	Sputum	MGIT	100	90	91,6	100	72,7	100	100	76,9
		Bilasan Bronkoalveolus (BAL)		81,4	93,4	73,3	95,7	22,2	100	100	85,3
		Overall (Sputum+BAL)		86,8	93,1	78,5	96				
2	Surendra Sharma, dkk. (2015)	Sputum	LJ dan MGIT	96,9	99,8	99,7	98,3				
		Bilasan Bronkoalveolus (BAL)		90,0	100	100	98,1				
3	Tri Nugraha, dkk. (2018)	Sputum	LJ	93,6	27,17	68,9	71,21				
4	Eka Kurniawan, dkk. (2016)	Sputum	LJ	83,3	95,46	93,7	87,5				
5	Erizka Rivani, dkk. (2019)	Sputum	LJ	97	62	25	99				
6	Nurlia Naim, dkk. (2018)	Sputum	LJ	73,3	90,12	73,3	76,86	53,3	95,1	80	84,61
7	Tingyu Tang, dkk. (2017)	Sputum	MGIT	84,0	87,8	78,2	87,2	51,9	98,6	93,3	75,1
8	Amany Omar, dkk. (2019)	Sputum	LJ	95,9	94,4	97,9	89,5	65,3	100	100	51,4
9	Ilhan Afsar, dkk. (2018)	Res	LJ dan MGIT	100	99	85	100	54	100	100	97
		Non-res		87	99	87	99	50	100	100	98
10	Arzu, N. Zeka, dkk. (2011)	Res	LJ	86,2	99,4	98	96	46,5	99,7	96,4	86,3
		Non-Res		67,7	96,5	80,7	93,2	12,9	100	100	84,2
11	Panayotis Ioannidi, dkk. (2011)	Res	LJ dan MGIT	90,6	94,3	93,5	91,7				
		Non-res		100	91,6	50	100				
12	Souad M. Al-Ateah, dkk. (2012)	Res	LJ	95,4	100	100	98,5	79,5	99,2	97,2	93,4
		Non-Res		94,4	100	100	98	33,3	100	100	80
13	Eleonora Bunsow, dkk. (2013)	Res	LJ dan MGIT	97,1	98,6	95,7	99,1	89,5	96,8	89,5	96,8
		Non-Res		33,3	99,7	80	97,3	16,6	99,6	66,6	96,3
14	Muhammad Kashif, dkk. (2015)	Overall (Res dan Non-Res)	LJ	90,1	98,3	99,7	62,2	77,7	91,4	98,2	40,8
15	Shagufta Iram, dkk. (2015)	Overall (Res dan Non-Res)	LJ	100	96	96	100	83,7	100	100	87,2

Catatan

LJ : Lowenstein Jensen

MGIT : Mycobacterium Growth Indicator Tube

Res : Respiratory

Non-Res : Non-Respiratory

Sen : Sensitivitas

Spe : Spesifisitas

PPV : Positive Predictive Value

NPV : Negative Predictive Value

Pada 15 artikel ilmiah yang didapat dan dikaji, terdapat 10 artikel yang membahas mengenai nilai validitas dari tes mikroskopis (apusan Ziehl Neelsen/BTA), namun 5 artikel tidak membahasnya. Pada tes mikroskopis, 10 artikel menyatakan bahwa nilai sensitivitas tes mikroskopis lebih rendah dibandingkan dengan nilai spesifisitasnya dengan rentang nilai sensitivitas sebesar 46,5-89,5% dan rentang spesifisitas sebesar 91,4-100%. Empat jurnal yang menyajikan nilai validitas dengan menggunakan sampel sputum menyatakan bahwa nilai sensitivitas tes mikroskopis berada pada rentang 51,9-72,7%. Rentang nilai sensitivitas ini lebih kecil dibandingkan dengan rentang nilai spesifisitasnya sebesar 95,06-100%. Hal serupa dinyatakan juga pada 4 artikel yang menyajikan nilai validitas dengan sampel *respiratory* dan *non-respiratory* secara terpisah. Pada sampel *respiratory*, dinyatakan bahwa rentang nilai sensitivitas sebesar 46,5-89,5%, sedangkan nilai spesifisitasnya lebih besar yaitu 96,8-100%. Pada sampel *non-respiratory*, dinyatakan bahwa rentang nilai sensitivitas sebesar 12,9-50% yang artinya lebih kecil dibandingkan nilai spesifisitas sebesar 99,6-100%.

Rentang nilai PPV dan NPV pada tes mikroskopis dari 10 artikel sebesar 80-100% dan 40,8-97%. Pada 4 artikel yang menyajikan nilai validitas dengan menggunakan sampel sputum, didapatkan nilai PPV sebesar 80-100% dan NPV sebesar 51,4-85,3% yang artinya nilai NPV pada tes mikroskopis lebih kecil dibandingkan nilai PPV tes mikroskopis.

Terdapat 15 artikel ilmiah yang membahas mengenai nilai validitas dari metode tes cepat molekuler GeneXpert MTB/RIF. Pada 15 artikel penelitian tersebut menyatakan rentang nilai sensitivitas yaitu 73,3-100%, nilai spesifisitas yaitu 27,17-100%, nilai PPV yaitu 25-100%, dan nilai NPV yaitu 62,2-100%. Terdapat 6 artikel yang memiliki nilai sensitivitas lebih tinggi dibandingkan dengan nilai spesifisitasnya, sedangkan 9 artikel lainnya, menyatakan nilai spesifisitas lebih tinggi dibandingkan dengan nilai sensitivitas. Namun, nilai sensitivitas dan spesifisitas ini tidak memiliki perbedaan nilai yang terlalu tinggi. Terdapat 5 penelitian yang memaparkan nilai validitas dengan sampel *respiratory* dan *non-respiratory* secara terpisah. Pada sampel *respiratory* didapatkan nilai sensitivitas sebesar 86,2-100%, nilai spesifisitas sebesar 94,3-100%, nilai PPV sebesar 85-100%, dan nilai NPV sebesar 91,7% - 100%. Pada sampel *non-respiratory*

didapatkan nilai sensitivitas 33,3-100%, rentang spesifisitas sebesar 91,6-100%, rentang PPV sebesar 50-100%, dan rentang NPV sebesar 93,2-100%. Dari 5 artikel terdapat 2 penelitian yaitu penelitian oleh Eleonora Bunsow (2013) dan Arzu Zeka (2011) yang memiliki nilai rendah pada sensitivitas di sampel *non respiratory* yaitu sebesar 33,3% dan 67,7%.

Pembahasan

Pengukuran validitas klinis suatu uji diagnostik dilakukan dengan membandingkan hasil prediksi suatu pemeriksaan atau tes terhadap suatu nilai baku yang mendekati kebenaran (*gold standard*)

1. Uji Validitas Tes Mikroskopis terhadap Kultur

Nilai validitas tes mikroskopis terhadap kultur dapat disimpulkan bahwa kesepuluh artikel menunjukkan nilai sensitivitas tes mikroskopis memiliki nilai yang cukup rendah (46,5-89,5%) dibandingkan nilai spesifisitasnya dengan rentang 91,4-100%. Ini membuktikan bahwa walaupun tes mikroskopis merupakan metode yang cepat dengan biaya yang lebih murah, tes mikroskopis memiliki nilai sensitivitas dengan rentang nilai yang rendah dalam mendeteksi bakteri *Mycobacterium tuberculosis*. Hal tersebut dapat terjadi dikarenakan apusan Ziehl Neelsen memerlukan 5×10^3 hingga 1×10^4 bakteri/ml sampel untuk mendapatkan hasil positif. Jika bakteri kurang dari batasan tersebut, dapat dipastikan tes tersebut akan dinyatakan negatif (Tingyu Tang, 2017). Selain itu, terdapat berbagai faktor yang memengaruhi sensitivitas tes mikroskopis rendah, seperti penanganan sampel dan pembuatan preparat yang dikerjakan oleh petugas laboratorium. Dalam pemeriksaan mikroskopis TB Paru, penanganan sputum pertama kali oleh petugas laboratorium adalah pembuatan sediaan apus, dimana kualitas sediaan apus sangat menentukan hasil pemeriksaan. Oleh karena itu, pemeriksaan TB haruslah dilakukan oleh petugas laboratorium yang memiliki keahlian dalam pembuatan preparat apusan BTA (Waty, 2012).

Di samping itu, terdapat empat artikel yang menyajikan nilai validitas dengan sampel *respiratory* dan *non-respiratory* secara terpisah. Rentang nilai sensitivitas sampel *respiratory* sebesar 46,5-89,5%, sedangkan pada sampel *non-respiratory* nilai sensitivitas sebesar 12,9-50%. Berbeda dengan sampel *respiratory*, sampel *non-respiratory* memiliki

nilai sensitivitas yang lebih rendah daripada sampel *respiratory*. Hal ini disebabkan karena sampel *non-respiratory* atau *extrapulmonary* memiliki sifat *paucibacillary* yang artinya adanya lesi di permukaan jaringan namun jika dilakukan tes mikroskopis dengan apusan BTA hasilnya negatif (Shagufta, 2015 dan Eleonora, 2013).

Selain memiliki nilai sensitivitas yang rendah (46,5-89,5%), tes mikroskopis juga memiliki nilai NPV yang cukup rendah (40,8-97%). Dari 10 artikel penelitian dinyatakan bahwa delapan artikel penelitian memiliki nilai PPV lebih tinggi dari nilai NPV. Seperti pada penelitian yang dilakukan Tingyu Tang (2017), didapatkan nilai PPV sebesar 93,3% yang artinya lebih tinggi dibandingkan dengan NPV sebesar 75,1%. Hasil ini sejalan dengan penelitian Amany Omar (2019) yang mendapatkan hasil PPV sebesar 100% dibandingkan dengan nilai NPV sebesar 51,4%. Hasil ini menunjukkan bahwa hasil tes mikroskopis yang positif dapat memprediksi pasien terindikasi tuberkulosis cukup tinggi, sedangkan hasil tes mikroskopis negatif yang dapat benar-benar memprediksi pasien bebas tuberkulosis cukup rendah. Dengan kata lain, terdapat banyak kasus negatif namun pada kenyataannya pasien terinfeksi *Mycobacterium tuberculosis*, atau biasa disebut dengan negatif palsu (Najmah, 2015).

2. Uji Validitas Tes Cepat Molekuler GeneXpert MTB/RIF terhadap Kultur

Berbeda dengan tes mikroskopis, tabel 4.3 menunjukkan nilai validitas tes cepat molekuler GeneXpert tidak terlalu memiliki perbedaan yang begitu besar. Nilai validitas tes cepat molekuler GeneXpert berada pada kategori sedang hingga tinggi dengan rentang sensitivitas 73,33-100%, spesifisitas sebesar 27,17-100%, PPV sebesar 25-100%, NPV sebesar 62,2-100%, walaupun pada beberapa penelitian menunjukkan nilai validitas yang sangat rendah. Pada penelitian Amany Omar (2019) dengan sampel sputum menghasilkan nilai sensitivitas sebesar 95,9%, spesifisitas sebesar 94,4%, PPV sebesar 97,9%, dan NPV sebesar 89,5%. Nilai validitas pada penelitian tersebut cukup tinggi dan sejalan dengan penelitian Surendra (2015) dengan sampel sputum yang memiliki nilai sensitivitas sebesar 96,9%, nilai spesifisitas 99,8%, PPV sebesar 99,7%, dan NPV sebesar 98,3%. Namun, pada penelitian Tri Nugraha (2018) didapati nilai spesifisitas yang rendah sebesar 27,17%. Hal ini disebabkan karena pada saat persiapan sampel, rasio sampel dan reagen GeneXpert yang berisi NaOH dan isopropanol

adalah 1:3. Penambahan reagen dimaksudkan untuk mengencerkan sampel, mengurangi bahaya, dan menginaktivasi penghambat/*inhibitor* selama PCR berjalan. Volume reagen yang kurang adekuat dapat menyebabkan penghambat PCR tidak diinaktivasi sehingga mengganggu proses PCR. Selain itu, sampel sputum kurang terdekontaminasi sehingga mengurangi kepekaan PCR pada sampel (Tri Nugraha, 2018).

Penelitian lain yang dilakukan oleh Erizka (2019) menyatakan nilai PPV dan NPV tes cepat molekuler GeneXpert sebesar 25% dan 99%. Hal ini menunjukkan bahwa hasil tes mikroskopis yang positif dapat memprediksi pasien terindikasi tuberkulosis cukup rendah dan hasil tes mikroskopis negatif yang dapat benar-benar memprediksi pasien bebas tuberkulosis cukup tinggi. Dengan nilai PPV yang lebih tinggi dibandingkan dengan nilai NPV dapat dikatakan bahwa banyak kasus positif namun pada kenyataannya pasien tidaklah mengidap tuberkulosis atau tidak benar-benar sakit. Positif palsu ini dapat terjadi dikarenakan tes cepat molekuler GeneXpert tidak mampu membedakan bakteri hidup dan bakteri mati. GeneXpert dapat mendeteksi DNA bakteri *Mycobacterium tuberculosis* yang sudah mati pada sampel sputum. Selain itu, pada kultur sputum (sebagai *gold standar*) bakteri tidak tumbuh karena jumlah bakteri kurang dari batasan jumlah bakteri yang diharapkan (sebanyak 50 – 100 bakteri/ml sputum). Inilah yang menyebabkan tes cepat molekuler GeneXpert memiliki hasil positif, sedangkan kultur adalah negatif (Eka Kurniawan, 2016).

Selain terdapat nilai PPV yang rendah di satu penelitian, dari 15 artikel yang dikaji dapat disimpulkan nilai terendah NPV tes cepat molekuler GeneXpert sebesar 62,2% pada penelitian Muhammad (2015) dengan sampel *Overall (respiratory dan non-respiratory)*. Nilai NPV ini lebih kecil dibandingkan dengan nilai PPV sebesar 99,7% sehingga menyebabkan kasus negatif palsu pada pemeriksaan GeneXpert. Hal ini dapat terjadi karena jumlah bakteri *Mycobacterium tuberculosis* pada sampel berjumlah kurang dari 131 bakteri/ml yang artinya kurang dari batasan jumlah deteksi kuman, sehingga pemeriksaan dengan GeneXpert menunjukkan hasil negatif. Penyebab lain yaitu pada kultur sebagai pembanding (*Lowenstein Jensen*) selain menumbuhkan *Mycobacterium tuberculosis*, juga dapat menumbuhkan *Mycobacterium other than tuberculosis*

(MOTT) sehingga menimbulkan hasil kultur positif (Eka Kurniawan, 2016). Keberadaan MOTT ini juga dapat memberikan hasil negatif GeneXpert dan hasil positif pada tes mikroskopis. Seperti pada penelitian Erizka (2013), terdapat hasil negatif pada GeneXpert dan hasil positif pada mikroskopis yang selanjutnya dideteksi dengan PCR menggunakan gen *hsp65* yang merupakan gen pada bakteri MOTT. Hasil dari pemeriksaan tersebut terbukti bahwa terdapat bakteri MOTT pada sampel. Kemungkinan bakteri yang termasuk MOTT adalah *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium leprae*, *Mycobacterium avium*, dll.

3. Perbandingan Uji Validitas Antara Tes Cepat Molekuler GeneXpert MTB/RIF terhadap Kultur dan Tes Mikroskopis terhadap Kultur

Setelah membandingkan hasil tes cepat molekuler GeneXpert dan tes mikroskopis dari kelima belas artikel, dapat disimpulkan bahwa tes cepat molekuler GeneXpert memiliki nilai sensitivitas yang lebih baik dibandingkan dengan tes mikroskopis. Ini dibuktikan dengan rentang nilai sensitivitas GeneXpert sebesar 73,33% hingga mencapai 100%, sedangkan tes mikroskopis memiliki nilai sensitivitas dengan rentang 46,5-89,5%.

Selain memiliki sensitivitas yang lebih tinggi dibandingkan dengan tes mikroskopis, GeneXpert juga dapat mendeteksi resistensi Rifampicin secara bersamaan dengan metode PCR. Hal ini disebabkan karena adanya *molecular beacon* yang berisi urutan *probe* yang berguna untuk mendeteksi keberadaan *Mycobacterium tuberculosis* sekaligus mendiagnosa resistensi rifampicin (Nurlia Naim, 2018). Dengan kelebihan tersebut, tes cepat molekuler GeneXpert terbukti merupakan metode pengujian yang memiliki sensitivitas yang tinggi, cepat, sederhana, dan akurat untuk mendeteksi *Mycobacterium tuberculosis* khususnya pada kasus pasien tuberkulosis dengan BTA negatif.

Namun, walaupun memiliki nilai validitas yang tinggi, GeneXpert tetaplah metode yang tidak lepas dari kesalahan, seperti positif palsu dan negatif palsu. Metode ini harus dikombinasikan dengan dengan metode deteksi *Mycobacterium tuberculosis* lainnya, seperti tes mikroskopis dan pemeriksaan penunjang lainnya sebagai strategi yang paling akurat dan hemat biaya untuk diagnosis tuberkulosis khususnya untuk BTA negatif. GeneXpert hanya dapat dipakai dalam diagnosis dini bersamaan dengan tes lainnya seperti tes mikroskopis, dan tidak

direkomendasikan untuk melihat kemajuan pengobatan pasien. Hal ini disebabkan karena tes GeneXpert tidak dapat membedakan bakteri hidup maupun bakteri mati (Eka Kurniawan, 2016).

Validitas tes mikroskopis dan tes cepat molekuler GeneXpert pada penelitian ini juga tidak lepas dari standar baku yang dipakai. Standar baku yang dipakai dalam mendeteksi *Mycobacterium tuberculosis* yaitu kultur dengan jenis kultur media padat yaitu *Lowenstein Jensen* (LJ) dan kultur media cair yaitu *Mycobacteria Growth Indikator Tube* (MGIT). Pada LJ, kultur ini berbasis media agar dan telur / *egg-based and agar-based media* dengan batas deteksi 50 – 100 bakteri/ml sputum (Massi, 2012). Namun, kultur LJ memiliki waktu pertumbuhan yang lebih lama dibandingkan dengan kultur *middlebrook agar* yaitu 3-8 minggu. Media cair berbasis *middlebrook agar* seperti MGIT lebih cepat dalam menimbulkan pertumbuhan kuman dibandingkan dengan media padat (12-14 hari dapat dilihat pertumbuhannya) dan lebih spesifik karena mampu membedakan antara *Mycobacterium tuberculosis* dan MOTT. Kultur MGIT sendiri dilengkapi dengan nutrisi seperti gliserol, asam oleat, albumin, dan dekstrosa kecuali untuk *Mycobacterium bovis* yang dihambat oleh gliserol. Media ini juga mengandung berbagai garam yang tersusun dengan teratur untuk menyediakan unsur penting bagi pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis*. Setelah media MGIT ditambahkan spesimen dan diinkubasi, dilakukan pembacaan setiap hari dengan menggunakan bantuan sinar UV. Hasil biakan MGIT positif adalah jika sensor fluoresens pada tabung MGIT mendeteksi pertumbuhan >75 unit atau terdapat biomassa 10^5 - 10^6 CFU/ml medium berdasarkan penggunaan oksigen pada tabung, sedangkan hasil biakan MGIT negatif adalah jika sensor fluoresens tidak mendeteksi penggunaan oksigen pada tabung MGIT sebagai penanda tidak adanya pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis*. Namun, MGIT memiliki kekurangan yaitu sangat sensitif terhadap kualitas inoculum yaitu racun dan kontaminasi dari bahan sisa hasil dekontaminasi. Pada MGIT (jenis yang sering dipakai yaitu BACTEC MGIT 960), kontaminasi dapat terjadi akibat penyimpanan dan transportasi sampel yang kurang baik. Selain itu, perbedaan metode dekontaminasi yang dilakukan di tiap laboratorium pemeriksaan juga dapat memberikan hasil yang berbeda. Terjadinya kontaminasi pada kultur menyebabkan terhambatnya

pemeriksaan sehingga perlu dilakukan pengulangan. Pengulangan akan menyebabkan terjadinya keterlambatan dalam mendiagnosis pasien TB dan membutuhkan biaya yang lebih besar (Presialia, 2020).

Kesimpulan

Artikel yang membahas nilai validitas tes mikroskopis didapatkan bahwa rentang nilai sensitivitas sebesar 46,5-89,5%, nilai spesifisitas sebesar 91,4-100%, nilai PPV sebesar 80-100%, dan nilai NPV sebesar 40,8-97%. Sedangkan artikel yang membahas nilai validitas tes cepat molekuler GeneXpert MTB/RIF didapatkan bahwa rentang nilai sensitivitas sebesar 73,33-100%, nilai spesifisitas sebesar 27,17-100%, nilai PPV sebesar 25-100%, dan nilai NPV sebesar 62,2-100%.

Tes cepat molekuler GeneXpert memiliki nilai sensitivitas yang lebih tinggi yaitu 73,33-100% dibandingkan dengan tes mikroskopis yang memiliki nilai sensitivitas yaitu 46,5-89,5%. Namun, masih ditemukan kasus positif palsu dan negatif palsu pada tes cepat molekuler GeneXpert dalam mendeteksi *Mycobacterium tuberculosis* sehingga tetap perlu dilakukan kombinasi pemeriksaan tuberkulosis dengan tes mikroskopis, kultur, dan tes penunjang lainnya.

Daftar Pustaka

- Afsar, Ihsan, dkk. 2018. *Comparison of Culture, Microskopis Smear and Molecular methods in Diagnosis of Tuberculosis. Official Journal of the Spanish Society of Chemotherapy. Rev Esp Quimioter* 2018; 31(5): 435-438. Diakses dari <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30229645/>
- Agrawal, Monika, dkk. 2016. *Comparative Study of GeneXpert with ZN Stain and Culture in Samples of Suspected Pulmonary Tuberculosis. Journal of Clinical Diagnostic Research Vol-10(5): DC09-DC12*. Diakses dari <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27437212/>
- Akbar, Hairil. 2018. *Pengantar Epidemiologi*. Bandung: PT Refika Aditama
- Badan Standardisasi Nasional. 2012. *Laboratorium Medik – Persyaratan Mutu dan Kompetensi*. SNI ISO 15189:2012. Jakarta
- Bunsow, Eleonora, dkk. 2014. *Evaluation of GeneXpert MTB/RIF for the detection of Mycobacterium tuberculosis and resistance to rifampicin in clinical specimens. Journal of Infection Elsevier* (2014) 68, 338-343.
- Desikan, P. 2013. *Sputum Smear Microscopy in Tuberculosis: Is It Still Relevant? The Indian Journal of Medical Research*, 137(3), 422.
- Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin. 2017. *Buku Panduan Pemeriksaan Sputum BTA*. Makassar: Universitas Hasanuddin.
- Kementerian Kesehatan RI. 2012. *Petunjuk Teknis Pemeriksaan Biakan, Identifikasi, dan Uji Kepekaan Mycobacterium tuberculosis pada Media Padat*. Jakarta. Diakses dari <https://docplayer.info/32777765-Kementerian-kesehatan-ri.html>
- Kementerian Kesehatan RI. 2012. *Modul Pelatihan Pemeriksaan Dahak Mikroskopis TB*. Jakarta.
- Kementerian Kesehatan RI. 2016. *Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 67 Tahun 2016*. Jakarta.
- Kementrian Kesehatan RI. 2017. *Modul Pelatihan Laboratorium Tuberkulosis Bagi Petugas di Fasyankes*. Jakarta
- Kementerian Kesehatan RI. 2017. *Petunjuk Teknis Pemeriksaan TB Menggunakan Tes Cepat Molekuler*. Jakarta
- Kementerian Kesehatan RI. 2018. *Profil Kesehatan Indonesia 2018*. Jakarta.
- Kurniawati, Eka, dkk. 2016. *Nilai Diagnostik "Real Time" PCR GeneXpert pada TB Paru BTA Negatif*. Jurnal Kesehatan Andalas 2016: 5(3).
- Kusumastuti, Adhi, dkk. 2019. *Metode Penelitian Kualitatif*. Semarang: Lembaga Pendidikan Sukarno Pressindo (LPSP).
- Maksum, Iman Permana, dkk. 2017. *PCR DALAM INVESTIGASI PENYAKIT MITOKONDRIA*. Bandung: Alqaprint Jatinangor Cakrawala Baru Dunia Buku. Diakses dari https://www.researchgate.net/publication/336084613_Buku_PCR_Dalam_Investigasi_Penyakit_Mitokondria
- Massi, Nasrum. 2012. *Pendekatan Molekuler Mikrobiologi dalam Mendeteksi Kuman Tuberkulosis*. Makassar: Dua Satu Press

- Naim, dkk. 2018. *Performa Tes Cepat Molekuler dalam Diagnosa Tuberkulosis di Balai Besar Kesehatan Paru Masyarakat Makassar*. Jurnal Media Analisis Kesehatan Vol. 9, No. 2.
- Najmah. 2015. *Epidemiologi Untuk Mahasiswa Kesehatan Masyarakat*. Depok: PT Raja Grafindo Persada.
- Nugraha, Tri, dkk. 2018. *Evaluasi Metode GeneXpert MTB/RIF dengan Sampel Raw Sputum untuk Mendeteksi Tuberkulosis Paru*. Jurnal Epidemiologi Kesehatan Indonesia Volume 2 Juni 2018 No 1.
- Presialia, Athira, dkk. 2020. *Perbandingan Tingkat Kontaminasi Kultur Mycobacterium tuberculosis pada Medium Lowenstein-Jensen dan BACTEC MGIT 960*. Jurnal Kedokteran Meditek 26(2):36-42.
- Putra, I Wayan Gede Artawan Eka, dkk. 2016. *Modul Penelitian Uji Diagnostik dan Skrining*. Denpasar: Program Studi Kesehatan Masyarakat Fakultas Kedokteran Universitas Udayana.
- Radji, Maksum. 2020. *Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi & Kedokteran*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Rivani, Erizka, dkk. 2019. *Perbandingan Uji Diagnostik GeneXpert MTB/RIF untuk mendeteksi resistensi rifampicin Mycobacterium tuberculosis pada pasien TB paru di RSUD dr. Moh. Hoesin Palembang*. JKK Volume 6, No. 1, Januari 2019:23-28.
- Riyanto. 2014. *Validasi & Verifikasi Metode Uji Sesuai dengan ISO/IEC 17025 Laboratorium Pengujian dan Kalibrasi*. Yogyakarta: Deepublish.
- Tang, Tingyu, dkk. 2017. *Evaluation of GeneXpert MTB/RIF for detecting Mycobacterium tuberculosis in a hospital in China*. Journal of International Medical Research 2017 Vol 45(2) 816-822.
- Waty, Mieke Waluya, dkk., 2012. *Faktor yang Berhubungan Dengan Error Rate (Angka Kesalahan Baca) Pemeriksaan Dahak (Studi Cross Sectional) pada Petugas Laboratorium Pemeriksaan TB Paru Di Kabupaten Tulungagung*. STIKes Surya Mitra Husada Kediri 2012. Diakses dari <https://media.neliti.com/media/publications/236486-faktor-faktor-yang-berhubungan-dengan-er-dee5c0f0.pdf>
- WHO. 2019. *Global Tuberculosis Report 2019*. World Health Organization. Diakses dari <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/329368/9789241565714-eng.pdf>
- Widoyono, MPH., 2011. *Penyakit Tropis Epidemiologi, Penularan, Pencegahan & Pemberantasannya Edisi Kedua*. Jakarta : Erlangga

KARTU KONSULTASI SKRIPSI

Nama Mahasiswa : Egia Vanesha Laina
 Judul Skripsi : Perbandingan Uji Validitas Tes Cepat Molekuler
 GeneXpert MTB/RIF dan Tes Mikroskopis terhadap
 Kultur dalam Mendeteksi *Mycobacterium tuberculosis*
 (Studi Pustaka).

Pembimbing Utama : Maria Tuntun Siregar, S.Pd., M.Biomed.

No	Hari/Tanggal Bimbingan	Materi	Keterangan	Paraf
1.	Minggu / 20-12-2020	Bab I, II, III	Perbaikan Proposal	
2.	Senin / 4-1-2021	Bab I, II, III	Perbaikan Proposal	
3.	Selasa / 12-1-2021	Bab I, II, III	Perbaikan Proposal	
4.	Selasa / 19-1-2021	Bab I, II, III	Perbaikan Proposal	
5.	Senin / 25-1-2021	Bab I, II, III	Perbaikan Proposal	
6.	Senin / 25-1-2021	ACC	Seminar Proposal	
7.	Senin / 19-4-2021	Bab I, II, III	Perbaikan Proposal	
8.	Jumat / 30-4-2021	ACC	Kumpul Proposal	
9.	Selasa / 25-5-2021	Bab IV	Perbaikan	
10.	Jumat / 4-6-2021	Bab I, II, III, IV, V	Perbaikan	
11.	Kamis / 10-6-2021	Bab IV, V	Perbaikan	
12.	Jumat / 11-6-2021	Penulisan	Perbaikan	
13.	Jumat / 11-6-2021	ACC	Seminar Hasil	
14.	Senin / 5-7-2021	Penulisan	Perbaikan	
15.	Jumat / 16-7-2021	Penulisan	Perbaikan	
16.	Jumat / 16-7-2021	ACC Cetak		

Ketua Prodi TLM Program Sarjana Terapan



Sri Ujiani, S. Pd., M. Biomed.

NIP 197301031996032001

KARTU KONSULTASI SKRIPSI

Nama Mahasiswa : Egia Vanesha Laina

Judul Skripsi : Perbandingan Uji Validitas Tes Cepat Molekuler GeneXpert MTB/RIF dan Tes Mikroskopis terhadap Kultur Dalam Mendeteksi *Mycobacterium tuberculosis* (Studi Pustaka).

Pembimbing Pendamping : Wimba Widagdho Dinutanayo, S.ST., M.Sc.

No	Hari/Tanggal Bimbingan	Materi	Keterangan	Paraf
1.	Kamis / 31-12-2020	Bab I	Perbaikan	
2.	Selasa / 5-1-2021	Bab I, II, III	Perbaikan	
3.	Kamis / 21-1-2021	Bab I, II, III	Perbaikan	
4.	Kamis / 21-1-2021	ACC		
5.	Selasa / 20-4-2021	Konsep Bab IV		
6.	Rabu / 2-6-2021	Bab IV	Perbaikan	
7.	Jumat / 4-6-2021	Bab IV, V	Perbaikan	
8.	Selasa / 8-6-2021	Bab IV, V	Perbaikan	
9.	Rabu / 9-6-2021	Bab IV, V	Perbaikan	
10.	Jumat / 11-6-2021	Bab I, II, III, IV, V	ACC	
11.	Senin / 5-7-2021	Bab I, II, III, IV, V	ACC Cetak	

Ketua Prodi TLM Program Sarjana Terapan



Sri Ujiani, S. Pd., M. Biomed.

NIP 197301031996032001