

Gastrointestinal Sistem Patojenleri *(Diyare nedeni olan mikroorganizmalar)* *Gastrointestinal (GI) Panel, Multiplex RT-PCR*

İnfeksiyöz gastroenteritler, gıda güvenliği, hijyen kontrolü ve tedavi seçeneklerindeki gelişmelere karşın gelişmiş ülkelerde tüm yaş gruplarında hala en önemli sağlık sorunlarının başında gelmektedir. ABD’de her yıl görülen 76 milyon gıda kaynaklı infeksiyondan, 325.000 kişinin hastanede tedavi edildiği, 5.000 kişinin de öldüğü rapor edilmektedir. Ayrıca antibiyotik tedavisi gören hastalarda *Clostridium difficile* ’nin neden olduğu psödomembranöz kolit olguları sürekli artış göstermekte, ciddi tedavi masraflarına yol açmaktadır.

Bulaşıcı diyareler dünya çapında 5 yaş altı çocuklarda da ölüme yol açan önemli nedenlerdendir. Ayrıca bu nedenle çocuklarda malnutrisyon, diğer infeksiyonlara karşı artmış duyarlılık, büyüme ve zeka gerilikleri de görülebilmektedir.

İnfeksiyöz diyare etkenlerini (bakteri, virus veya protozoonlar) ortaya çıkartabilmek oldukça karmaşık ve uzun laboratuvar yöntemlerini gerektirmektedir. Ancak son zamanlarda bu patojenleri, tarama amacıyla üretilmiş kalitatif invitro testlerle saptamak oldukça kolay hale getirilmiştir.

Laboratuvarımızda kullanılmaya başlanan yeni multiplex RT-PCR yöntemi ile (FilmArray GI paneli), Cary Blair taşıma besiyerinde saklanmış olan dışkı örneklerinde 22 farklı diyare etkenini saptamak mümkündür. Gastrointestinal infeksiyon belirti ve bulgularını gösteren bireylerden alınan tek bir dışkı örneğinde çok sayıda gastrointestinal patojenin nükleik asit varlığının izole edilerek çoğaltılabilmesi, içerisinde gerekli tüm reaktifleri barındıran kapalı bir sistemde otomatik olarak yapılabilmektedir.

Bu panelde RNA virüsleri de bulunduğundan, çoğaltma aşaması öncesinde viral RNA’yı cDNA’ya çevirmek üzere bir revers transkripsiyon basamağı da gerçekleştirilmektedir.

FilmArray GI Test panelinde bulunan diyare etkeni mikroorganizmalar;

Bakteriler	Virüsler
<ul style="list-style-type: none"> * <i>Campylobacter (C.jejuni/C.coli/C. upsaliensis)</i> * <i>Clostridium difficile</i> (toksin A/B) * <i>Plesiomonas shigelloides</i> * <i>Salmonella</i> * <i>Vibrio (V. parahaemolyticus/V. vulnificus/V. cholerae)</i> * <i>Yersinia enterocolitica</i> 	<ul style="list-style-type: none"> * Adenovirus F 40/41 * Astrovirus * Norovirus GI/GII * Rotavirus A * Sapovirus (Genogrup I, II, IV ve V)
Diare etkeni <i>E. coli</i> / <i>Shigella</i>	Parazitler
<ul style="list-style-type: none"> * <i>Enterogregatif E. coli (EAEC)</i> * <i>Enteropatogenik E. coli (EPEC)</i> * <i>Enterotoksijenik E. coli (ETEC)</i> * Shiga-benzeri toksin üreten <i>E. coli (STEC) stx1/stx2</i> * <i>E. coli O157</i> * <i>Shigella/Enteroinvaziv E. coli (EIEC)</i> 	<ul style="list-style-type: none"> * <i>Cryptosporidium</i> * <i>Cyclospora cayatanensis</i> * <i>Entamoeba histolytica</i> * <i>Giardia lamblia</i>

Testten elde edilen sonuçlar diğer klinik, laboratuvar ve epidemiyolojik verilerle birlikte değerlendirilmelidir.

“Pozitif” sonuç; panelde bulunmayan mikroorganizmalarla birlikte olan infeksiyonu dışlamaz. Saptanan mikroorganizma hastalığa neden olan asıl etken olmayabilir. Testle birlikte kültür de yapılması bakteriyel etkenlerin tür düzeyinde tanımlanabilmeleri için gereklidir.

“Negatif” sonuç alındığında; infeksiyonun nedeni olarak, panelde yer almayan diğer etkenler veya noninfeksiöz (ülseratif kolit, irritabl barsak sendromu veya Crohn hastalığı) etkenler mutlaka göz önünde bulundurulmalıdır.

Bu test Clostridium difficile infeksiyonunun tanı ve tedavi yönlendirmesi için kullanılmamalıdır.

Gastrointestinal Sistem Patojenleri

Diyare nedeni olan mikroorganizmalar

Campylobacter (*C. jejuni*/*C. coli*/*C. upsaliensis*)

Campylobacter jejuni, *C. coli* ve *C. upsaliensis* daha çok enterit bazen de sistemik enfeksiyona neden olan bakterilerlerdir. Gram negatif sporsuz, virgöl, (s) veya martı kanadı şeklinde hareketlidirler. İyi pişmemiş tavuk eti, pastörize edilmemiş sütler, kirli sular ile bulaşır. Ev hayvanlarının dışkılarından da bulaşabilir.

Campylobacter en sık görülen bakteriyel enterit nedenidir. Enfeksiyon asemptomatik seyredebildiği gibi kanlı veya kansız diyare, ateş ve abdominal kramp tarzında ağrılarla görülebilir. *Campylobacter* enfeksiyonları Guillain Barré sendromu ve reaktif artrit gibi uzun süren hastalıklara da neden olabilir.

Clostridium difficile

C. difficile anaerob, sporlu Gram pozitif çomaktır, doğada yaygın olarak bulunur. Barsak florasına yerleşen bakteriler insandan insana fekal-oral yolla bulaşır. Uzun süre antibiyotik tedavisi normal gastrointestinal bakteri florasını bozarak *C. difficile* enfeksiyonuna zemin hazırlar.

C. difficile hastane kaynaklı diyarenin en önemli nedenidir, çok sayıda ölüme ve ciddi hastane giderlerine neden olmaktadır. Bazı suşların infekte bireyin kalın barsağında hasara neden olan toksin A ve toksin B adı verilen iki enterotoksini vardır. Toksin yapan suşlar asemptomatik taşıyıcılıktan kanlı diyare, karın ağrısı ve ateşle seyreden psödomembranöz enterokolite kadar çeşitlilik gösteren tablolara neden olur.

Plesiomonas shigelloides

Gram negatif çomak şeklinde bakteriler olup *Enterobacteriaceae* ailesinin üyesidir. *P.shigelloides* çoğunlukla deniz ürünleri ve kirli sular veya bunlarla yıkanmış ve iyi pişmemiş gıdaların yenmesiyle bulaşır. Gastroenterite neden olur, semptomlar genellikle sulu diyaredir, bazen dizanteri şeklinde diyare görülebilir, şikayetler iki haftadan da uzun sürebilir.

Salmonella

Salmonellaların sınıflandırılması karışıktır. *S. enterica* ve *S. bongori* bu türün üyeleridir. Salmonellaların 2500'den fazla serotipi mevcuttur, büyük çoğunluğu *S. enterica* içerisinde yer alır. Hareketli, çomak şeklinde, Gram negatif bakterilerdir. Kontamine et, tavuk eti, tavuk ürünleri ve hazır gıdalardan bulaşır. Tifoidal (enterik ateş) ve nontifoidal (enterokolit) hastalıklara neden olurlar. Nontifoidal tablo, akut sulu diyare ve ateş ile seyrederken, tifoidal formu ağır sistemik bulgulara sahiptir.

Vibrio (*V. Parahaemolyticus* / *V. Vulnificus* / *V. cholerae*)

Vibrio hareketli, Gram negatif, virgöl şeklinde bakteridir ve genellikle tuzlu su kabukluları ile yayılır. Hem barsak dışı (yumuşak doku enfeksiyonu, sepsisemi, göz ve kulak enfeksiyonları) hem de barsak hastalıklarına neden olur.

Gastrointestinal hastalıklara, çoğunlukla *V.cholerae*, *V.paraahaemolyticus*, *V.vulnificus*, *V.fluvialis*, *V. mimicus* ya da *V. alginolyticus* türleri neden olur ve enfeksiyon kirli gıdalarla bulaşır. Klasik kolera (*V. cholerae*) aşırı dehidratasyon ve ölüme neden olabilecek kadar fazla miktarda sulu diyare ile karakterizedir. Hastalığa kolera toksini neden olur.

Yersinia enterocolitica

Küçük, genellikle tek hücre veya küçük zincir şeklinde görülen, Gram negatif basillerdir.

Kirli sularla ve gıdalarla, çoğunlukla da az pişmiş veya çiğ etle (özellikle domuz eti) bulaşır. Hastalığın seyri enfeksiyona neden olan türün serotipi ile değişkenlik gösterir. Hastalık, sınırlı gastroenteritten, terminal ileit veya mesanenterik lenfadenite kadar çeşitlilik gösterebilir. Semptomlar appendisit taklit edebilir, bu nedenle de gereksiz cerrahi işlemlere neden olabilir.

Diyare etkeni Escherichia coli / Shigella

E. coli ve *Shigella* tüm dünyada diyare ile gelişen hastalıkların en önemli etkenidir. Diyareye neden olan *E. coli* ve *Shigella*'nın oluşturdukları klinik tablo, hastalığın seyri ve ciddiyetine göre farklılıklar gösteren çeşitli patojenik tipleri mevcuttur. Bu farklılıklara adhesinler, invazin ve toksinler gibi virulans faktörleri neden olur. Bakterilerin virulans faktörlerini ya da bunları kontrol eden genler, bu organizmaları saptamak ve birbirinden ayırmak amacıyla kullanılmaktadır.

Beş ana patojenik tipi mevcuttur; Enteroagregatif *E. coli* (EAEC), Enteropatojenik *E.coli* (EPEC), Enterotoksijenik *E.coli* (ETEC), Shiga-benzeri toksin üreten *E.coli* (STEC) ve *Shigella* / Enteroinvaziv *E.coli* (EIEC).

Enteroagregatif *E. coli* (EAEC)

EAEC çoğunlukla fekal-oral yolla bulaşır. İnflamatuvar diyare, sulu bazen de kanlı dışkılama, düşük düzeyli ateş, kusma ve karın ağrısına neden olur. İnfeksiyonlar asemptomatik de olabilir.

Enteropatojenik *E. coli* (EPEC)

Enterotoksin ya da shiga benzeri toksin üretmezler. Akut veya uzamış, kansız diyare, kusma ve ateşle seyreden tabloya neden olurlar. Çocuklarda tedavi edilmediğinde EPEC malnutrisyona ve buna bağlı büyüme geriliklerine neden olabilir. Asemptomatik taşıyıcılık görülen olgular da bildirilmiştir.

Enterotoksijenik *E. coli* (ETEC)

Isıya dayanıksız ve/veya dayanıklı enterotoksinlerin varlığı ETEC tanısını koydurur. Bu toksinler barsak epitel hücrelerine bağlanarak elektrolit kaybettiiren sulu diyareye neden olurlar. ETEC gelişmekte olan ülkelerde özellikle çocuklarda önemli bir diyare nedenidir ayrıca "turist diyaresi" etkeni olarak da bilinir.

Shiga-benzeri toksin-üreten *E. coli* (STEC), *E. coli* O157 ile birlikte

İki tip Shiga-benzeri toksin mevcuttur, Shiga-benzeri toksin 1 (Stx1) ve Shiga-benzeri toksin 2 (Stx2) (verotoksinler olarak da bilinir). Kanlı diyarenin primer nedenidir, özellikle çocuklarda ve yaşlılarda, toksinin eritrositleri parçalaması ve bu durumun da renal yetmezliğe yol açması ile karakterize "Hemolitik Üremik Sendrom" (HÜS) adı verilen ölümcül bir tabloya neden olabilir. Bunlar önemli gıda kaynaklı patojenlerdir. Antimikrobiyal tedavi HÜS riskini arttırabilir, özellikle antibotiklere dirençli suşlarda, bunun sonucunda da toksin üretimi artar. İnfeksiyöz doz düşüktür.

***Shigella*/Enteroinvasive *E. coli* (EIEC)**

Shigella'nın 4 alt grubu mevcuttur, grup A (*S. dysenteriae*), grup B (*S. flexneri*), grup C (*S. boydii*) ve grup D (*S. sonnei*). Tüm *Shigella* türleri hareketsiz, Gram negatif basillerdir. Genellikle insandan insana, kirli gıda ve sularla bulaşır. İnfeksiyon, hijyenin bozuk olduğu yerlerde daha sık görülmektedir. Shigeloz ve basilli dizanteriden sorumludur.

EIEC kolona invaze olur ve diyareye neden olan virulans faktörleri vardır. *Shigella* tarafından oluşan hastalığa benzer semptom ve bulgular görülür. *Shigella* ve EIEC genellikle aynı şekilde tedavi edilir.

Parazitler

Cryptosporidium

Mide, barsak ve safra yollarında enfeksiyona neden olabilen bir protozoondur. Dışkıda bulunan, kloramaya dayanıklı ookistlerle kontamine olmuş su ve gıdaların ağızdan alınması ile bulaşır. Gelişmiş toplumlarda görülen diyarenin en sık rastlanan nedenlerinden biridir. *C. hominis* ve *C. parvum* en sık görülen türlerdir. Hastalık genellikle kısa süreli gastroenterit şeklinde görülmekte ve tedavi gerektirmeden iyileşir. Fakat AIDS gibi immun sistemin baskılandığı durumlarda ölüme kadar varan ciddi hastalık tablosu görülebilir.

Cyclospora cayetanensis

Yalnızca insanlarda gastroenterit yapan bir protozoondur. Sporsuz ookistlerin dışkıyla atılması ile bulaşır. Olgunlaşma süresinin ardından, ookistler enfeksiyöz hale gelir ve kontamine gıdalar ya da sularla alındığında hastalığa yol açar. İnfeksiyon sıklıkla tropikal, subtropikal ya da ılık iklim süren bölgelerde görülür. Hastalık aylarca süren kansız diyare şeklinde görülebilir.

Entamoeba histolytica

Tropik ve subtropik bölgelerde yaygın görülen patojenik bir protozoondur. Kistleri, dışkı ile kontamine olmuş gıda ve su ile bulaşır. İnsan ana konaktır. Çoğu enfeksiyon asemptomatiktir. Bazı enfeksiyonlar kolit ya da dizanteri benzeri hastalıkla sonuçlanan ciddi olgulara ve bazen karaciğer absesine yol açan bir hastalık olan invaziv amebiyaza da neden olabilir. Standart mikroskopi yöntemleri ile apatojen olan *E. dispar*'dan ayrılması zordur, bu nedenle epidemiyolojisi kesin olarak bilinmemektedir.

FilmArray GI Panelinde *E. histolytica*, yüksek düzey *E. dispar* ile çapraz reaksiyon gösterebilir.

Giardia

G. duodenalis ya da *G. intestinalis* de denilmektedir. Tüm dünyada yaygın olarak görülen kamçılı bir barsak parazidir. İnfeksiyon riski, kreşlerdeki çocuklarda ve bağışıklığı baskılanmış kişilerde daha fazladır. Prevalansı, gelişmiş ülkelerde %1-7 iken, gelişmekte olan ülkelerde bu oran %50 civarındadır. Kirli gıda ya da su tüketilmesi ile bulaşır. İnfeksiyonun görülme oranları yaz aylarında artar, büyük çoğunluğu asemptomatiktir, hastalık gelişenlerde bulantı, ateş ve sulu diyare görülür.

Viruslar

Adenovirus F 40/41

Adenovirus'lar solunum yolu, gastrointestinal sistem ve konjunktiva infeksiyonlarına neden olur. Kılıfsız, çift sarmal DNA viruslarıdır, çevre şartlarına oldukça dayanıklıdır. Adenovirusların A dan G 'ye kadar yedi altgrupta toplanmış 57 serotipi vardır.

Gastrointestinal infeksiyonlar F alt grubunda bulunan serotip 40 ve 41 ile meydana gelir. İki yaşından küçük çocuklarda görülen diyarelerin %5-15'inde Adenovirus F 40/41 saptanmaktadır. Erişkinlerde orta şiddette diyare görülürken immun sistemi baskılanmış hastalarda kronik diyare ve komplikasyonları görülür. Adenovirus, gastrointestinal sistem infeksiyonundan sonra haftalar hatta aylar boyunca dışkıda bulunabilir. Bu, hastalığın yayılmasının kontrolü açısından çok önemlidir.

Astrovirus

Astroviridae ailesinden tek zincirli RNA virusudur. Gastroenterite neden olan 8 serotipi mevcuttur. Fekal-oral yolla bulaşır, çocuklar, immun sistemi baskılanmış erişkinler, hasta çocuk bakıcıları, askerler ve bakımevlerinde yaşayanlar risk altındadır. Semptomların diğer enterik viruslara göre daha ağır olduğu şikayetler, diyare, kusma, karın ağrısı ve üç gün süren ateştir. Okul çağındaki çocukların %70-90'ında astrovirus'a karşı antikorlar saptanmıştır. Antikorların bağışıklıktaki rolü henüz tam olarak anlaşılamamıştır.

Norovirus GI/GII

Caliciviridae ailesinin üyesi olan RNA viruslarıdır. Son derece bulaşıcıdır. Beş genogrubu vardır (GI-GV). GI, GII ve GIV daha çok insanlarda bulunur. Bulantı, kusma, ve ateşin birlikte görüldüğü diyarelere neden olur. Bulaşma fekal-oral yolla veya kusmuğun aerosolleri ile olmaktadır. İnfeksiyöz dozu 18 virus partikülü kadardır. İnfeksiyon semptomları genellikle 24-48 saat devam eder ve kendiliğinden sonlanır. Fakat bağışıklık sistemi baskılanmış bireylerde, kronik diyare gelişebilir. Bazı çocuklarda nekrotizan kolit görüldüğü bildirilmiştir.

Salgınlar, yolcu gemileri, hastaneler, bakımevleri, okul ve askeri birlikler gibi ortamlarda ortaya çıkmaktadır. İnfeksiyon sıklığı özellikle kış dönemlerinde pik yapmaktadır. İnfeksiyon sonrası bağışıklık, yüksek antikor titrelerine rağmen kısa sürelidir, bu nedenle 6 ay içerisinde tekrar infeksiyon görülebilir.

Rotavirus A

Reoviridae ailesinin üyesi olan çift sarmallı bir RNA virusudur. Dünyada bebek ve küçük çocuklarda diyarenin en sık ve önemli nedenidir. Yedi altgruptan (A-G) oluşur. Rotavirus A, B ve C insanlarda hastalık yapar, Rotavirus A, infeksiyonların büyük çoğunluğundan sorumludur. Hastalık semptomları orta şiddette olabilir ve birkaç gün sürer, uzamış hastalık ise iki yaş altı çocuklarda ciddi dehidratasyona neden olur.

Rotavirus A, gelişmekte olan ülkelerde bebek ölümlerinin en önemli nedenidir. Virus, akut hastalıktan hemen önce ve sonra dışkı ile atılmakta ve çevresel şartlardan etkilenmemektedir, uzun süre canlı kalabilmekte ve inaktivasyona direnç göstermektedir.

Hastalık, kışın ve ilkbahar aylarında artar. İnfeksiyondan sonra gelişen bağışıklığın uzun sürdüğü düşünülmektedir. Dünya çapında kullanılan onaylı iki farklı aşı mevcuttur, Rotarix (RV1) ve RotaTeq (RV5).

Sapovirus (Genogroups I, II, IV, and V)

Caliciviridae ailesindedir. Norovirus'a hem genetik olarak hem de yaptığı hastalığın özellikleri açısından benzer. Beş genogrubu vardır, Grup GI, GII, GIV ve GV insanlarda hastalık yaparken GIII domuzlarda diyareye neden olur.

Sapoviruslar çoğunlukla çocuklarda hastalığa neden olurlar, ancak erişkinler de duyarlıdır. Bakımevleri, hapishaneler, yolcu gemileri ve hastane gibi ortamlarda salgınlara neden olabilirler.

KAYNAKLAR:

1. Biofire Diagnostics Web sitesi <http://www.biofiredx.com/support/filmarray-support/>

Test Kodu	: 35430
Test Adı	: Gastrointestinal Sistem Patojenleri
Test Yöntemi	: Multiplex RT-PCR (Reverse-Transcriptase Polymerase Chain Reaction)
Örnek	: Dışkı örnekleri. Test için 500 µL örnek gerekmektedir.
Çalışma Günleri	: Hergün (Pzt-Cmt)
Rapor Tarihi	: Aynı gün 16:00 dan sonra
Saklama koşulları	: Örnekler en kısa sürede hazırlanmalı ve laboratuvara gönderilmelidir. Zorunluluk halinde 48 saat kadar oda ısısında veya buzdolabında saklanabilir.
Örnek Alınma Şekli	: Cary Blair taşıma besiyerinde gönderilmiş olan taze dışkı örnekleri.