

Testfiche

Syndromale multiplex PCR voor gastroenteritis diagnostiek moleculaire detectie

Microbiologie

Dr. Emmanuel De Laere
Dr. Roos De Smedt
Apr. Frederik Van Hoecke
Dr. Steven Vervaeke

Hematologie

Dr. Els Moreau
Dr. Inge Van haute
Dr. Hilde Vandenbussche
Apr. Eline Verhoye

Klinische Chemie

Apr. Inge De Cuyper
Dr. Dieter De Smet
Apr. Johan Debrabandere
Apr. An-Sofie Decavele
Apr. Hilde Vanpoucke

Moleculaire Biologie

Prof. Dr. Geert Martens

Aanbevolen gebruik:

Snelle detectiemethode van 25 fecespathogenen/targets op feces van patiënten met een klinisch vermoeden van infectieuze gastroenteritis.

Bacteriën:

- *Aeromonas* species
- Shigatoxine producerende *E. coli* (= VTEC, STEC, EHEC)
(met mogelijkheid van bijkomende specifieke detectie van serotype O157:H7)
- Detectie van virulentiegenen bij enteropathogene *E. coli*:
 - aggR-gen (typerend voor EAEC)
 - aeaA-gen (typerend voor EPEC)
 - LT/ST-gen (typerend voor ETEC)
- *Campylobacter* species (*C. coli*, *C. jejuni*)
- Toxicogene *Clostridium difficile*
(met mogelijkheid van bijkomende specifieke detectie van ribotype 027)
- *Shigella* species/EIEC
- *Salmonella enterica*
- *Yersinia enterocolitica*
- *Vibrio* species

Virussen:

- Norovirus (afzonderlijke detectie van genogroep GI en GII)
- Rotavirus
- Adenovirus (specifieke detectie van enteropathogene serotypes 40 en 41)
- Astrovirus
- Sapovirus

Parasieten:

- *Entamoeba histolytica*
- *Cryptosporidium* species
- *Giardia lamblia*
- *Blastocystis hominis*
- *Cyclospora cayetanensis*
- *Dientamoeba fragilis*



382-MED 15189

Methode:

Real-time PCR

Stalen:

Voorkeursstaal: feces in een pot met schroefdop.

Verzendinstructies:

Stalen dienen onmiddellijk naar het labo verzonden te worden.

In afwachting van verzending moeten de stalen bewaard worden op koelkasttemperatuur (max. 72 uur). Bewaring op kamertemperatuur moet vermeden worden omdat de staalkwaliteit snel achteruit gaat waardoor de detectie van sommige pathogenen in het gedrang komt. Indien transport langer op zich laat wachten moeten de stalen onmiddellijk ingevroren worden (bij -21°C).

Minimale hoeveelheid staal:

Erwtgrote hoeveelheid feces (1g).

Aan te vragen test:

De test kan op twee manieren aangevraagd worden:

- 1) Gastroenteritis diagnostiek (PCR)
- 2) AB geassocieerde diarree

Het eerste panel dient aangevraagd te worden wanneer er geen klinisch vermoeden is van een *Clostridium difficile* problematiek in het kader van recent antibioticagebruik. Een positieve *Clostridium difficile* zal in deze testarm evenwel toch geantwoord worden indien de patiënt ouder is dan 2 jaar, *Clostridium difficile* de enige test is die positief blijkt én actieve toxineproductie aangetoond kon worden.

Het tweede panel dient aangevraagd te worden bij een klinisch vermoeden van antibioticageassocieerde diarree/*Clostridium difficile* problematiek. Bij deze test wordt *Clostridium difficile* steeds geantwoord, maar wordt geen bevestigende toxinebepaling uitgevoerd aangezien de klinische context hier samen met de detectie van de kiem de diagnose bevestigt.

Antwoordtijd:

Stalen die het labo bereiken op weekdays: resultaat beschikbaar < 24h.

Stalen die het labo bereiken op weekenddagen: resultaat op maandag.

Klinische informatie:**- Vibrio:**

Het bekendste species binnen dit genus is uiteraard *Vibrio cholerae*, de veroorzaker van cholera, een epidemisch verlopende forse diarree. In België komt cholera enkel nog voor als importziekte. Andere species binnen dit genus zijn *V. vulnificus*, *V. parahaemolyticus* en *V. alginolyticus*. *Vibrio* species komen voornamelijk voor in warm zeewater. Infectie met deze bacteriën gebeurt in de meeste gevallen na eten van rauwe of onvoldoende gekookte zeevruchten en dan vooral oesters. *Vibriose* wordt gekenmerkt door waterige diarree, abdominale krampen, braken en koorts. De aandoening is meestal goedaardig met een volledig herstel na een drietal dagen. Een **antibiotische behandeling is meestal dan ook niet nodig**.

- Aeromonas:

Bacteriën binnen het genus *Aeromonas* veroorzaken bij de mens een bijzonder brede waaier aan infecties, zowel intestinaal als extraintestinaal. Hetzelfde geldt voor wat betreft de ernst van deze infecties, gaande van relatief milde gastroenteritis tot levensbedreigende aandoeningen als necrotiserende fasciitis of sepsis. *Aeromonas* is tevens een oorzaak van reizigersdiarree, maar kan ook een dysenterie-achtig beeld geven. *A. caviae*, *A. hydrophila*, *A. salmonicida* en *A. veronii* worden beschouwd als de klinisch relevante species binnen dit divers genus en deze worden allemaal opgepikt door de test. **Ernstig klinisch verloop of aanhoudende symptomen zijn een reden om antibioticatherapie te starten.** Omwille van de eerder onvoorspelbare gevoeligheid, gebeurt de keuze van het antibioticum bij voorkeur op basis van het antibiogram.

- Shigella/EIEC:

EIEC en *Shigella* delen bijzonder veel gemeenschappelijke kenmerken en hoewel de genusnaam *Shigella* nog steeds breed gebruikt wordt (vooral om historische redenen en omwille van het verband met de ziekte shigellose), hebben diverse phylogenetische studies aangetoond dat *Shigella* een invasief *E. coli* pathotype is dat duidelijk onder het species *E. coli* resideert. *Shigella* is wereldwijd de grootste oorzaak van bacteriële diarree, maar vormt vooral een probleem in derdewereldlanden en heel wat minder in het Westen. In Azië en Afrika is het de meest voorkomende oorzaak van ernstige diarree bij kinderen. *Shigella* is over het algemeen zelflimiterend (symptomen blijven gemiddeld 7 dagen aanhouden). Zonder AB blijven de patiënten nog 6 weken lang de kiem verspreiden. Een gecompliceerde gastro-enteritis (bacteriëmie en colonobstructie of perforatie) is zeldzaam bij volwassenen. *Shigella* species zijn minder gevoelig aan zuren en overleven dus de maag: zeer klein inoculum nodig (10-100!), maw zeer gemakkelijk over te dragen. Er bestaat enkel een menselijk reservoir. Binnen het genus bestaan *S. dysenteriae* (serogroep A), *S. flexneri* (serogroep B), *S. boydii* (serogroep C) en *S. sonnei*. *S. dysenteriae* kan HUS veroorzaken door het shigatoxine Stx, wat niet te onderscheiden is van het Stx1 en Stx2 van STEC. Sommige *S. flexneri* en *S. sonnei* produceren hetzelfde Stx en kunnen dus in theorie ook HUS veroorzaken, maar er zijn tot op heden geen rapporten over verschenen. De relatie tussen HUS en antibioticagebruik is bij *Shigella* veel minder duidelijk dan bij EHEC (bovendien is EHEC een veel belangrijker oorzaak van HUS). Antibioticaresistentie is een probleem, dus steeds afgaan op het antibiogram. Empirisch best FQ of ceftriaxone, maar: **niet gecompliceerde enterocolitis is geen indicatie voor AB!**

- STEC (VTEC/EHEC):

Dit zijn *E. coli*'s die in staat zijn om het shigatoxine te produceren (Stx) en die de typische bijhorende bloederige diarree veroorzaken. De aanwezigheid van shigatoxine 1 of 2 (Stx1 of Stx2) bij een *E. coli* volstaat om te spreken van STEC. Het shigatoxine is één van de meest krachtige bacteriële toxines die er bestaan. Beide toxines hebben eenzelfde toxische werking, maar zijn antigenisch verschillend. Deze genen en dus de toxineproductie worden ook teruggevonden bij andere *E. coli* pathotypes. Het is daarnaast ook zo dat niet enkel serotype O157:H7 een probleem vormt! Het klinisch beeld van een STEC-infectie bestaat uit bloederige diarree (zichtbaar), leukocytose in bloed, abdominale pijn, maar meestal weinig tot geen koorts. Nierfalen (HUS), hemolytische anemie en thrombopenie verschijnen typisch 5-10 dagen na begin van de symptomen. Behandeling is supportief. **AB zijn hier absoluut te mijden:** ze veranderen de loop van de ziekte niet en verhogen het risico op HUS. HUS is een belangrijke complicatie bij kinderen. Elke shigatoxine positieve *E. coli* kan bloederige diarree en HUS veroorzaken!

- EPEC/ETEC/EAEC:

Er bestaan heel wat pathogene varianten van de klassieke commensale *E. coli*. De 6 belangrijkste diarree veroorzakende virotypes zijn EPEC (enteropathogene *E. coli*), STEC/EHEC (Shigatoxine producerende *E. coli*), EIEC (enteroinvasieve *E. coli*), EAEC (enteroaggregatieve *E. coli*), ETEC (enterotoxigene *E. coli*) en DAEC (diffusely adherent *E. coli*). Deze pathogene varianten zijn ontstaan door verlies van genen of door opname van virulentiegenen (horizontal gene transfer). Typische target-bacterie combinaties zijn: aggR-EAEC, aeaA-EPEC en LT/ST-ETEC. LT is het hitte-labiel enterotoxine en ST het hitte-stabiele enterotoxine geproduceerd door ETEC, wat een belangrijke oorzaak is van reizigersdiarree en endemisch voorkomt in de meeste ontwikkelingslanden.

- Salmonella enterica:

Salmonella kent maar één species: *Salmonella enterica* (recentelijk ook een tweede, *Salmonella bongori*). Dat species kent wel >2500 serotypes (serotype = serovar), waarvan de serovarnaam vaak als speciesnaam gebruikt wordt. Dit is taxonomisch niet correct, maar in epidemiologische setting en voor

de clinicus praktisch wel bruikbaar. Buiktyfus wordt veroorzaakt door *Salmonella* Typhi en *S. Paratyphi*. Het is een ernstig ziektebeeld met bacteriëmie, diarree en hoge koorts. Sporadisch komt nog eens een *S. Typhi* voor in België, terwijl *S. Paratyphi* pure importpathologie is. Resistentie is ook hier een probleem, empirisch te starten met FQ of Ceftriaxone. De non-typhi salmonellosen zijn evenwel géén indicatie voor AB! Non-typhi gastroenteritis is niet te onderscheiden van vele andere pathogenen en kan zowel asymptomatisch als mild tot gecompliceerd verlopen. Klassiek beeld: diarree, nausea, braken, koorts en abdominale krampen. **Non-typhi is meestal zelflimiterend**, de koorts verdwijnt na een drietal dagen, de diarree sleept langer aan (4 tot 10 dagen). Bacteriëmie of andere tekens van invasieve ziekte vereisen wel antibioticatherapie.

- *Campylobacter* species:

Campylobacter enteritis wordt vooral door *C. jejuni* of *C. coli* veroorzaakt en is klinisch niet te onderscheiden van *Salmonella* of *Shigella*. Er is abdominale pijn (of krampen) en diarree, soms hoge (ril)koorts die de diarree ook kan voorafgaan en een veralgemeend gevoel van onwel zijn. De ziekte is zelflimiterend en duurt gemiddeld 7 dagen. Ook ***Campylobacter* is geen indicatie voor antibioticatherapie!** De kliniek kan een pseudoappendicitis beeld geven, waarbij de diarree zelfs volledig kan ontbreken. Ook colitis kan voorkomen met inbegrip van bloederige diarree. Reactieve arthritis wordt gezien als laattijdige complicatie (idem *Salmonella* en *Shigella*). Antibiotica is enkel nodig bij invasief of ernstig verloop (bv bloederige diarree). Resistentie is een probleem. Clarithro of cipro kan opgestart worden als empirische therapie. Ook ander *Campylobacter* species veroorzaken diarree, maar veel minder frequent. Deze veel zeldzamere types worden niet gedetecteerd door deze multiplex PCR.

- *Yersinia enterocolitica*:

Er zijn 3 voor de mens belangrijke species, *Y. pestis* (oorzaak van 'de pest', geeft geen diarree), *Y. enterocolitica* en *Y. pseudotuberculosis*. De laatste twee veroorzaken diarree, waarvan de grote meerderheid veroorzaakt wordt door *Y. enterocolitica*. Yersiniosis is een zoönose: contact met varkens en rauw varkensvlees. Klinisch beeld: diarree, abdominale krampen/pijn, koorts; braken is ook mogelijk. Het verloop is evenwel subacuter dan de andere bacteriën: er kan al gauw één of twee weken gepasseerd zijn alvorens medische hulp gezocht wordt. De ziekte kan lang aanslepen. Rechterfossapijn (pseudoappendicitis, zeker in afwezigheid van diarree) kan ook een diagnostisch kenmerk zijn van een yersinose. Keelpijn is een frequent bijkomend symptoom (20%). Net zoals bij *Shigella* kan er nog lang na verdwijnen van de symptomen *Yersinia* gevonden worden in de stoelgang. Bij kinderen kan bloederige diarree voorkomen. Antibiotica hebben geen invloed op het verloop van de diarree, enkel de fecale uitscheiding daalt, maar aangezien transmissie van persoon tot persoon zelden voorkomt is er dus **geen indicatie voor AB**. Ook hier enkel voorbehouden voor ernstige invasieve infecties: FQ of ceftriaxone.

- *Clostridium difficile*:

Kenmerkend aan de *C. difficile* problematiek is de combinatie antibioticagebruik en waterige diarree (in hospitaalsetting). Naast abdominale pijn of krampen, is er mogelijks wat lichte koorts en nausea. Mucus- en bloedbijmenging in de stoelgang komt voor. Asymptomatisch dragerschap van de kiem is geen zeldzaamheid (zeer frequent bij jonge kinderen, maar ook in gezondheidsinstellingen tussen de 20% en 50% asymptomatisch dragerschap!). Asymptomatisch dragerschap is geen synoniem van infectie! Om onnodige behandeling van *Clostridium* en dus overgebruik van antibiotica te vermijden, moet *Clostridium* diagnostiek beperkt worden tot patiënten die voldoen aan bovenstaande beschrijving. **Enkel te behandelen bij de typische symptomen én klinische context én positieve test.** De behandeling bestaat in de eerste plaats uit het stoppen van de uitlokkende antibiotica. Omwille van het gevaar voor overdiagnostiek en overbehandeling, werd de aanvraagflow opgesplitst (zie hoger). Binnen de zeven dagen hertesten tijdens eenzelfde periode van diarree of als bewijs van genezing wordt niet aangeraden (feces kan lang positief blijven na genezing). Om bovenstaande reden zou gevormde stoelgang niet opgestuurd mogen worden voor *Clostridium* diagnostiek: enkele waterige stoelgangstalen zouden getest mogen worden. Merk op: detectie van *C. difficile* betekent niet dat er ook actieve toxineproductie is!

- Norovirus:

Norovirus is het belangrijkste darmpathogeen binnen de setting van epidemische gastroenteritis. Dit binnen alle leeftijdsgroepen en zowel binnen als buiten het ziekenhuis. Norovirus is oorzaak van gastroenteritis-uitbraken op cruiseschepen, in ziekenhuizen, in scholen, op jongerenkampen, op legerkampen... maar het virus is daarnaast ook de belangrijkste oorzaak van sporadische gevallen van infectieuze diarree. In een studie door het Amerikaanse CDC bleek Norovirus verantwoordelijk voor 60% van alle gevallen van acute gastroenteritis waarbij een pathogeen kon worden gevonden.

Verschillende eigenschappen van het virus verhogen de transmissiekans, zoals het klein inoculum nodig om tot een infectie te komen (<100 virale partikels), de langdurig virusuitscheiding en de goede overleving (dagen) buiten het lichaam. Een onmiddellijke en adequate implementatie van infectiecontrolemaatregelen is de belangrijkste factor om een Norovirusuitbraak onder controle te houden of te krijgen. Een Norovirusinfectie manifesteert zich vaak als braken en gezien ook de seizoensvoorkeur van het virus werd de infectie vroeger ook wel 'winter vomiting disease' genoemd. Fecale excretie van Norovirus in asymptomatisch geïnfekteerde individuen komt vaak voor, vooral in de pediatische populatie. Deze asymptomatische excretie heeft diagnostische implicaties: diarree ten gevolge van een andere oorzaak kan bij asymptomatische dragers foutief gediagnosticeerd worden als een Norovirusinfectie. Het asymptomatisch dragerschap vormt echter ook een epidemiologisch probleem (voedselverwerkers, stoelgangstransplantatie, gezondheidszorgmedewerkers,...). De belangrijkste symptomen van een Norovirusinfectie zijn nausea, braken, abdominale krampen en diarree. Soms staat diarree meer op de voorgrond dan braken, in andere gevallen is dit omgekeerd. Verder kunnen ook klachten van lethargie, lichte koorts, malaise en hoofdpijn optreden. Bij preterme neonaten kan een Norovirusinfectie gepaard gaan met zeer ernstige complicaties zoals een necrotiserende enterocolitis. De incubatieduur bedraagt ongeveer 48 uur en de ziekte duurt typisch niet veel langer dan 24h, met volledig herstel in zowat alle gevallen. De ziekte kent slechts zelden een gecompliceerd verloop.

- Rotavirus:

Rotavirus is wereldwijd de belangrijkste oorzaak van ernstige diarree bij zuigelingen en jonge kinderen. Vrijwel elk kind ter wereld krijgt voor de leeftijd van 5 jaar te maken met een rotavirusgastroenteritis en in veel landen is deze infectie levensbedreigend. Wereldwijd kan ongeveer 5% van alle sterfte bij kinderen jonger dan 5 jaar teruggebracht worden op een rotavirusinfectie. Deze situatie heeft ertoe geleid dat rotavirusvaccins ontwikkeld werden.

Rotavirusinfecties kunnen zowel asymptomatisch als symptomatisch verlopen. De leeftijd is hier de belangrijkste bepalende factor. Door de aanwezigheid van maternale antistoffen ontwikkelen neonaten geïnfekteerd met Rotavirus maar zelden symptomen. Een uitzondering hierop vormen preterme neonaten. Het verdwijnen van deze antistoffen valt samen met de leeftijd van maximale vatbaarheid van jonge kinderen voor een ernstige rotavirusinfectie, zijnde de leeftijd tussen 3 maand en 2 jaar. Rotavirus re-infectie is mogelijk op elke leeftijdsgroep, maar de ziekte verloopt dan zelden ernstig (zie immuniteit). Een ernstiger verloop wordt vaak geassocieerd met een ongebruikelijke stam of een extreem hoog inoculum. Een re-infectie kan tevens asymptomatisch verlopen.

Asymptomatische dragers vormen zowel een diagnostisch als een epidemiologisch probleem (zie Norovirus).

De meeste symptomatische rotavirusinfecties treden op tussen de leeftijd van 3 maand en 2 jaar, met een piekincidentie tussen 7 en 15 maanden, en deze leeftijdsgroep kent ook het meest ernstige ziekteverloop. Symptomatische infecties en uitbraken komen echter ook voor bij ouderen, vooral in zorginstellingen. Waterdunne diarree is het belangrijkste symptoom van een rotavirusinfectie, aangevuld met braken, koorts en nausea. De incubatieduur bedraagt 2 tot 4 dagen.

- Astrovirus:

Astrovirus is een belangrijke oorzaak van pediatische acute gastroenteritis: wereldwijd goed voor bijna 10% van alle acute niet-bacteriële gevallen van gastro-enteritis bij kinderen. De infectie komt vooral voor bij kinderen onder de twee jaar, maar de piek spreidt zich uit van zuigelingen tot 5 jaar. De infectie is meestal zelflimiterend. Serologische studies tonen dat de meeste kinderen geïnfekteerd zijn met het virus en in tweede tijd beschermende antistoffen aanmaken tegen het virus. Normaal gezonde volwassen hebben daarom vrijwel geen last van het virus. Een tweede risicogroep voor een astrovirusinfectie zijn ouderen en immuungecompromitteerde patiënten. Bij deze laatste groep kan een astrovirusinfectie zich systemisch verspreiden en ernstig verlopen.

Asymptomatische infecties zijn beschreven bij zowel kinderen als volwassenen, maar de prevalentie van asymptomatisch dragerschap is niet gekend.

De typische astrovirusinfectie verloopt milder dan een rota- of norovirusinfectie. De symptomen bestaan uit milde waterige diarree, braken, koorts, anorexie en abdominale pijn. Braken staat evenwel veel minder op de voorgrond dan bij een rota- of norovirusinfectie. Astrovirus veroorzaakt wereldwijd uitbraken van acute diarree, voornamelijk onder kinderen.

Hoewel een astrovirusinfectie in de regel mild verloopt, kan hospitalisatie toch noodzakelijk zijn. Systemische infecties worden gezien bij (zwaar) immuungecompromitteerde patiënten. Deze infecties verlopen soms zeer ernstig en zijn potentieel levensbedreigend.

- Enterische adenovirussen:

Adenovirussen zijn belangrijke pathogene virussen voor de mens, zowel voor immunocompetente als immunogecompromitteerde individuen. Het spectrum van klinische beelden is zeer breed. Ze veroorzaken 5 tot 10% van alle virale respiratoire infecties, maar kunnen ook een symptomatische gastroenteritis veroorzaken. Bij kinderen zijn enterische adenovirussen een belangrijke oorzaak van gastroenteritis: in een Australisch onderzoek was het virus verantwoordelijk voor bijna 10% van de ziekenhuisopnames voor gastroenteritis bij kinderen.

De meeste kinderen worden vroeg in het leven geïnfecteerd met adenovirussen, maar naar alle waarschijnlijkheid resulteert dit in minder dan de helft van de gevallen in een duidelijk ziektebeeld. Adenovirussen zijn in staat om verschillende celtypen te infecteren. Het al dan niet verschijnen van symptomen hangt voor een groot stuk af van het infecterende serotype. De ziektebeelden zijn meestal mild en zelflimiterend, maar kunnen evengoed een dodelijk afloop kennen, ook bij immunocompetente patiënten.

Adenovirusinfecties variëren van asymptomatisch tot levensbedreigend. Heel wat serotypes kunnen repliceren in de dunne darm, maar enkel de serotypes 40 en 41 binnen de adenovirus groep F worden gelinkt aan gastroenteritis. Adenovirusgastroenteritis wordt gedefinieerd als de reproduceerbare aanwezigheid van adenovirus in stoelgang bij patiënten met enteritis en de afwezigheid van andere oorzaken van enteritis.

Adenovirus kan worden teruggevonden in stoelgang bij patiënten zonder klinisch beeld van gastroenteritis. Asymptomatische uitscheiding van het virus komt dus voor. Daarnaast kan het virus ook zeer lang na een (al dan niet subklinische) primoinfectie aanwezig blijven in de stoelgang.

De typische adenovirusgastroenteritis presenteert zich als een langdurige diarree (8 tot 12 dagen) bij jonge kinderen.

Gedessimieerde ziekte komt zowel voor bij immunocompetente als immunogecompromitteerde patiënten. Adenovirusinfecties bij immunogecompromitteerde patiënten (in het bijzonder bij kinderen na allogene stamceltransplantatie) zijn potentieel levensbedreigend.

- Sapovirus:

Sapovirus veroorzaakt acute gastroenteritis op alle leeftijden en zowel sporadische gevallen als uitbraken. Op klinische grond valt een sapovirusinfectie of –uitbraak niet te onderscheiden van een norovirusinfectie of –uitbraak. Sapovirus is het onbekende broertje van norovirus en er wordt dan ook vaak niet aan gedacht als labotesten negatief blijven voor norovirus...

Subklinische (asymptomatische) sapovirusinfectie zijn beschreven bij zowel kinderen als volwassenen.

De viral load in feces is bij asymptomatische uitscheiders even hoog als bij patiënten met gastroenteritis.

De belangrijkste klinische symptomen zijn diarree en braken. Daarnaast komen nausea, buikkrampen, hoofdpijn, rillingen, spierpijn en malaise ook frequent voor. Net als bij een norovirusinfectie ontwikkelen patiënten weinig of geen koorts. Het verloop van een sapovirusinfectie is in de regel milder dan bij Rotavirus of Norovirus en hospitalisatie is meestal niet noodzakelijk. Bij Norovirus wordt een ernstiger klinisch verloop gezien bij immunogecompromitteerden en premature neonaten, of dit ook het geval is voor Sapovirus is niet gekend.

- Entamoeba histolytica:

Oorzaak van amoeben dysenterie. De parasiet komt voor in twee vormen: de trofozoiet (de actieve, delende vorm) en de cystevorm (de slapende fase). Humane infecties beginnen met de ingestie van cysten aanwezig in voedsel of water gecontamineerd met humaan fecaal materiaal. Het klinisch beeld bestaat uit asymptomatische infectie (90% van de gevallen!), diarree, dysenterie en lever-, long- of hersenabcessen. Het is niet bekend waarom slechts 10% van de geïnfecteerde individuen symptomen ontwikkelen en 90% asymptomatisch gekoloniseerd wordt. De cysten kunnen langdurig buiten het lichaam overleven. Het vinden van E. histolytica **vereist steeds behandeling** (ook bij asymptomatische patiënten, omwille van risico op invasieve infectie en om verspreiding van het pathogeen tegen te gaan). De behandeling bestaat uit metronidazole +/- paromomycine.

- Giardia lamblia:

Is een unicellulair eukaryotisch geflagelleerd microorganisme dat oorzaak is van giardiasis. Het klinisch beeld bestaat uit diarree, hematurie, koorts en anorexie. Ook Giardia kent een cystevorm en een trofozoetenvorm. De cystevorm kan langdurig in de omgeving overleven en zal na ingestie van gecontamineerd water (in mindere mate via gecontamineerd voedsel) ontwikkelen tot trofozoeten (in de proximale dunne darm). De trofozoeten zijn de vegetatieve vorm en vermenigvuldigen zich in de

dunnedarm, waar ze diarree en malabsorptie veroorzaken. De infectie komt vooral voor bij jonge kinderen en reizigers. De behandeling bestaat uit metronidazole.

- *Cryptosporidium* species:

Deze parasiet vormt een globaal probleem en kent een zeer complexe levenscyclus. *C. parvum* en *C. hominis* zijn de belangrijkste pathogenen en veroorzaken bij immunocompetente patiënten een kortdurende infectie (waterdunne diarree die meestal binnen de week over gaat). Ze kunnen echter ook infecties veroorzaken die ernstig en levensbedreigend verlopen (kinderen en immuungecompromitteerden – HIV!). In dat geval gaat het over ernstige en langdurige diarree die gepaard kan gaan met ernstige deshydratatie, braken en buikpijn. Symptomen zijn diarree, koorts en abdominale pijn en zijn meestal zelflimiterend. De infectie treedt op na infectie van gecontamineerd voedsel, water of via direct feco-oraal contact. De behandeling is supportief en indien behandeling noodzakelijk is, wordt best behandeld met paromomycine.

- *Dientamoeba fragilis*:

In tegenstelling tot wat de naam doet vermoeden, is deze parasiet geen entamoëbe, maar een flagelaat. De parasiet wordt geregeld gevonden in fecesstalen van patiënten met buikklachten (wisselend ontlastingspatroon, nausea, verminderde eetlust, opgezette buik) en/of diarree. Het gaat vaak over chronische klachten. Bij kinderen treedt buikpijn op de voorgrond. De parasiet wordt echter ook teruggevonden bij mensen zonder enige klachten. Een behandeling wordt dan ook best enkel opgestart in geval van langdurige klachten en na uitsluiten van andere oorzaken. Als behandeling kan metronidazole of paromomycine gebruikt worden.

- *Blastocystis hominis*:

Blastocystis hominis komt net als *D. fragilis* bij veel mensen als commensaal voor in de gezonde darm, zonder daar klachten te veroorzaken. Er bestaat daarom nog steeds belangrijke controverse over het al dan niet pathogeen zijn van dit species. *B. hominis* wordt soms echter ook in grote aantallen gezien in de stoelgang van mensen met diarree bij wie geen andere oorzaak van de diarree gevonden wordt. Deze infecties zijn in de regel mild en zelflimiterend. Enkel bij langdurige klachten en na uitsluiten van andere oorzaken, wordt behandeling aangeraden (metronidazole).

- *Cyclospora cayetanensis*:

Diarree veroorzaakt door *C. cayetanensis* duurt meestal vrij lang (2 of meer weken waterige diarree) en kan zowel bij immuungecompromitteerden als immunocompetenten ziekte veroorzaken. De infectie is meestal zelflimiterend. Indien therapie opgestart moet worden is cotrimoxazole de voorkeursbehandeling.

Interpretatie:

Een positief resultaat duidt op de aanwezigheid van DNA of RNA van het pathogeen.

Zowat alle pathogenen in het panel kunnen voorkomen in het kader van asymptomatisch dragerschap (meer info onder 'klinische informatie'). Het resultaat dient steeds geïnterpreteerd te worden rekening houdend met de anamnese, het klinisch beeld en het medisch dossier.

De resultaten worden kwalitatief gerapporteerd: positief (gedetecteerd) of negatief (niet gedetecteerd) voor elk pathogeen/target. Rapportering van (semi-)kwantitatieve resultaten zou in zeker zin misleidend zijn: het verband tussen de hoeveelheid genetisch materiaal in de PCR en de eventuele rol in het ziekteverloop is voor de verschillende pathogenen in deze test immers niet bepaald. Bovendien kunnen er verschillen zijn in opsporingsefficiëntie tussen de verschillende pathogenen, wat de correcte interpretatie van (semi-)kwantitatieve resultaten verder compliceert. Daarnaast is er ook geen absolute relatie tussen de sterkte van het PCR-sigitaal en de ernst van het klinisch beeld (al versterkt die relatie wel naarmate het sigitaal sterker wordt).

Het vinden van micro-organismen in een klinisch staal betekent niet noodzakelijk dat er een causaal verband is met de symptomen bij de patiënt. Dit geldt zeker bij acute virale gastro-enteritis. In stoelgangstalen wordt niet zelden meer dan één virus gevonden. Bij ongeveer 6 tot 17% van de kinderen met symptomen van gastro-enteritis worden virale menginfecties gezien. De associatie tussen virus en ziekte is het meest waarschijnlijk voor rotavirus, terwijl dit voor de andere gastro-intestinale virussen

minder duidelijk is. Er wordt best ook rekening gehouden met epidemiologische factoren (zoals een uitbraaksetting). De detectie van meer dan één virus lijkt het klinisch verloop echter niet te beïnvloeden en is ook niet gerelateerd aan de ernst van de infectie. Dit alles maakt de laboratoriumdiagnose van virale oorzaken van gastro-enteritis er niet gemakkelijker op. Het juiste oorzakelijke label hangen aan losse gevallen van acute gastro-enteritis kan daarom zeer moeilijk zijn, terwijl het vinden van het oorzakelijk virus bij een uitbraak dan weer snel duidelijk wordt.

Terugbetaling:

De testonderdelen die aangerekend kunnen worden aan het RIZIV zijn 552311-552322, 552333-552344, 549835-549846, 550734-550745, 549850-549861, 549872-549883, 127094-127105 en 549813-549824. De kostprijs voor patiënt of zijn/haar ziekteverzekering bedraagt maximaal 15 euro (informed consent!) en verloopt via pseudonomenclatuur voor sapovirusdetectie en astrovirusdetectie.

Detectielimieten:

Voor alle bacteriële en parasitaire targets ligt de detectielimiet op 100 DNA kopijen per reactie.

Norovirus GI: 75 TCID₅₀/mL
 Norovirus GII: 5 TCID₅₀/mL
 Adenovirus: 0,5 TCID₅₀/mL
 Rotavirus: 50 RNA kopijen/reactie
 Astrovirus: 500 RNA kopijen/reactie
 Sapovirus: 500 RNA kopijen/reactie

Ter vergelijking: de gevoeligheid van een faecesweek ligt veel lager (10 000 CFU/gram).

(bron: Comparison of the Detection Limits of the Culture and PCR Methods for the Detection of Clostridium difficile, Clostridium perfringens, Campylobacter jejuni, and Yersinia enterocolitica in Human Stool – PLOS one, aug 2018)

Verantwoordelijke klinisch bioloog:

Dr. Steven Vervaeke

Publicatiedatum fiche:

06/01/2021