

Akut Gastroenterit Etkenlerinin Moleküler Yöntemlerle Saptanması

Detection of Acute Gastroenteritis Agents by Molecular Methods

Şafak Göktaş¹, Ayşegül Aksoy Gökmen², Pınar Şamlıoğlu³

¹ İstanbul Gelişim Tıp Laboratuvarları, İstanbul, Türkiye

² İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji AD, İzmir, Türkiye

³ Sağlık Bilimleri Üniversitesi Tepecik Eğitim Araştırma Hastanesi, İzmir, Türkiye

Yazışma Adresi:

Dr. Ayşegül Aksoy Gökmen
İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Balatçık/Çiğli/İzmir
E-mail: aaksoygokmen@hotmail.com

Received: 15.12.2017,

Accepted: 06.03.2018

DOI: 10.5799/jcei.35046

Ö Z E T

Amaç: Gastroenteritler, tüm dünyada tüm yaş gruplarında morbidite ve mortalitenin en önemli nedenidir. Multiplex PCR testleri bakteriyel, viral, paraziter etkenlerin araştırılmasında duyarlı ve özgül sonuçlar vermektedir. Bu çalışmada akut gastroenterit ön tanısıyla gelen hastaların dışkı örneklerinin multiplex PZR yöntemi ile etkenlerin saptanarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntemler: 1 Ocak 2015-30 Eylül 2016 tarihleri arasında İstanbul Gelişim laboratuvarına gönderilen 471 hastadan alınan dışkı örnekleri çalışmaya dahil edildi. Tüm dışkı örnekleri GastroFinder SMART 18 FAST multiplex PZR testi (Pathofinder, Hollanda) ile üretici firma talimatları doğrultusunda çalışıldı. 18 farklı gastrointestinal patojen tek çalışmada saptandı.

Bulgular: Çalışmaya 471 hastadan alınan 471 dışkı örneği dahil edildi. 471 dışkı örneğinin 241'inde (%51,2) etken negatif iken, 230'unda (%48,8) etken izole edildi. 230 örnekten 190'unda (%82) tek etken, 40'ında iki veya daha fazla etken izole edildi. 190 örnekten 149' u (%31,6) bakteriyel, 26'sı (%5,5) paraziter, 15'i (%3,1) viral etkenlerdi. 149 bakteriyel etkenin 108'i (%23) *Salmonella spp*, 14'ü (%6) *EHEC*, 8'i (%3,5) *Clostridium difficile toxin A/B*, 8'i (%3,5) *Campylobacter spp.*, 7'si (%3) *Aeromonas spp.*, 2'si (%0,8) *Yersinia enterocolitica*, 2'si (%0,8) *Enterotoxigenic E. coli* (ETEC) olarak saptandı. 26 paraziter etkenden 18'i (%7,8) *Giardia lamblia*, 6'sı (%2,6), *Dientamoeba fragilis*, 2'si (%0,8) *Cryptosporidium spp* olarak saptandı. 15 viral etkenden 11'i (%4,7) *Norovirüs*, 4'ü (%1,7) *Astrovirüs* olarak izole edilmiştir.

Sonuç: Enterik patojenlerin multiplex PCR ile tanımlanması gereksiz antibiyotik tedavilerinin kullanılmasını önleyecektir.

Anahtar Kelimeler: Gastroenterit, Multiplex PZR, Dışkı

ABSTRACT

Objective: Gastroenteritis is the most important cause of morbidity and mortality in all age groups all over the world. Multiplex PCR tests give sensitive and specific results in the investigation of bacterial, viral, parasitic agents. In this study, it was aimed to determine the agents of the stool specimens of patients with acute diarrhea by multiplex PCR.

Materials and Methods: Stool sample taken from 471 patients sent to Istanbul Gelişim Laboratories between January 1, 2015 and September 30, 2016 was included in the study. All stool samples were processed according to manufacturer's instructions with GastroFinder SMART 18 FAST multiplex PCR test (Pathofinder, Holland). 18 different gastrointestinal pathogens were diagnosed in one study.

Results: Of the 471 patients stool sample included in the study. The agent was negative in 241 (51.2%), while the agent was isolated in 230 (48.8%). 190 (82%) had a single pathogen, 40 had two or more pathogens. Of the 190 samples detected with single agent, 149 (31.6%) were bacterial, 26 (5.5%) were parasitic and 15 (3.1%) were viral agents.

Of the 149 bacterial agents, 108 (23%) was detected as *Salmonella spp*, 14 (6%) as *EHEC*, 8 (3.5%) as *Clostridium difficile toxin A / B*, 8 (3.5%) as *Campylobacter spp.*, 7 (3%) *Aeromonas spp.*, 2 (0.8%) *Yersinia enterocolitica*, 2 (0.8%) *Enterotoxigenic E. coli* (ETEC). Of 26 parasitic

agents, 18 (7.8%) was detected as *Giardia lamblia*, 6 (2.6%) as *Dientamoeba fragilis* and 2 (0.8%) as *Cryptosporidium* spp.

Conclusion: Identification of enteric pathogens by multiplex PCR will avoids the use of unnecessary antibiotic treatments

Key Words: Gastroenteritis, Multiplex PCR, stool.

GİRİŞ

Gastroenteritler, tüm dünyada beş yaşından küçük çocuklarda ölüme neden olabilen önemli bir halk sağlığı sorunudur. Her yıl beş yaş altında 750.000'den fazla çocuğun ölümüne neden olduğu bildirilmiştir. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) verilerine göre yıllık yaklaşık 1,7 milyar vaka bulunmaktadır [1]. İshaller süresine göre akut (15 günden kısa süren gastroenterit) ve kronik (15 günden uzun süren gastroenterit) olarak ikiye ayrılabilir. Akut gastroenteritler (AGE) enfeksiyona veya enfeksiyon dışı etkenlere bağlı olarak gelişebilir. Akut enfeksiyöz gastroenteritlerin %30-70'inden virüsler, %10- 20'sinden bakteriler ve yaklaşık %5-10'undan parazitlerin sorumlu olduğu bilinmektedir. Bakterilerden *Campylobacter*, *Salmonella*, *Shigella*, *Clostridium difficile* and *Enterohemorajik E. coli*; virüslerden norovirüs, rotavirüs and adenovirüs serotip 40 and 41; parazitlerden *Giardia intestinalis*, *Entamoeba histolytica* ve *Cryptosporidium* spp en sık izole edilen mikroorganizmalardır. Genellikle kötü hijyen koşullarına bağlı olarak kontamine olmuş yiyecek ve içeceklerle enfeksiyon bulaşı görülür [2]. Akut gastroenteritlerin tanısında öykü ve klinik özellikler etkenlerin ayırd edilmesinde yeterli değildir. Kesin ayırıcı tanı için laboratuvar testlerine ihtiyaç vardır. Bakteriyel enfeksiyonlarda altın standart yöntem kültürdür. Kültürde üreyen mikroorganizmayı tanımlamak için gram boyama, biyokimyasal testler ve bazen de serolojik testlere ihtiyaç vardır. Bu testleri yapmak düşünüldüğünden daha zaman alıcı ve yoğun emek isteyen işlemlerdir. Gastrointestinal sistem etkenleri açısından kültürde düşük pozitiflik olduğundan hekimler arasında dışkı kültürü isteme açısından fikir birliği yoktur. Gastroenterit etkeni birçok virüsün kültürde saptanabilmesi mümkün değildir. Hücre kültürü yapabilen donanımlı laboratuvarların az olması, hücre kültürde üreme oranlarının düşük olması sebebiyle rutin tanıda daha çok hızlı antijen testleri kullanılmaktadır. Hızlı antijen testlerinin özgüllüğü ve duyarlılığı düşüktür. Dışkıda parazit incelemesinde ise genellikle direkt boyalı ve boyasız mikroskopik inceleme kullanılmaktadır. Dışkıda yumurta ve parazite ait kist, trofozoit gibi yapıların görülebilmesi için uzman ve deneyimli parazitologlara ihtiyaç vardır [1-3]. Tanı yöntemlerinin yetersiz kaldığı durumlarda, akut gastroenterit tedavisinde ampirik antibiyotik tedavisinden yüksek doz geniş spektrumlu antibiyotik tedavisine kadar değişen ve sonuçta bakteriyel direnç oluşumuna neden olabilen tedavi yöntemleri kullanılmaktadır [3]. Gereksiz tedaviden kaçınmak, hastalığın yayılmasını önlemek, enfeksiyon kontrolü ve epidemiyolojik önlemlerin alınması açısından hızlı ve doğru tanı gereklidir. Tanıda kullanılan konvansiyonel yöntemlerin performansı iyi olmasına rağmen, yoğun emek ve işgücü gerektirmesi, etkene yönelik doğru tanı testinin seçiminde hatalar olması açısından kısıtlılıkları bulunmaktadır [3]. Son yıllarda gastroenterite neden olan patojenlerin tanımlanması için multipleks moleküler testlerin kullanımında artış görülmektedir. Multipleks polimeraz

zincir reaksiyonu testleri özellikle immunsupresif hastalar ve çocuklar gibi enfeksiyon etkeninin belirlenmesinin ciddi önem taşıdığı kritik hasta grubunda rutin tanı testi olarak kullanılmaya başlanmıştır. Bu testler bakteri, virüs ve parazitleri tek bir reaksiyonda eş zamanlı saptayan yüksek duyarlılık ve özgüllükte olan moleküler testlerdir.

Bu çalışmada; İstanbul'da özel bir laboratuvara gönderilen akut gastroenterit ön tanılı hastaların dışkı örneklerinde multipleks-PZR yöntemi kullanarak viral, bakteriyel, parazitik etkenlerin saptanması amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEMLER

Bu çalışmaya 1 Ocak 2015-30 Eylül 2016 tarihleri arasında İstanbul Gelişim laboratuvarına gönderilen 471 hastadan alınan dışkı örneği dahil edilmiştir. Gönderilen dışkı örnekleri akut gastroenterit ön tanılı hastalara aitti. Her hastadan temiz kaba 30 gram dışkı örneği istenmiştir. Dışkı örnekleri soğuk zincir kurallarına uygun olarak İstanbul Gelişim laboratuvarına gönderilmiştir. Örnekler laboratuvara ulaşır ulaşmaz çalışmaya alınmıştır. Hemen çalışmaya alınamayan örnekler -80 °C de saklanmıştır.

Tüm dışkı örnekleri GastroFinder SMART 18 FAST multipleks PZR testi (Pathofinder, Holland) ile üretici firma talimatları doğrultusunda çalışılmıştır. 18 farklı gastrointestinal patojenin tek çalışmada tanısı yapılmıştır. GastroFinder SMART 18 FAST multipleks PZR testi ile *Campylobacter* spp., *Clostridium difficile* Tox. A ve B, *Salmonella* spp., Shiga toksin üreten *E. coli* (STEC), *Enteropathogenic E. coli* (EPEC), Enterotoxigenic *E. coli* (ETEC), *Shigella*, *Enteroinvasive E. coli* (EIEC), *Yersinia enterocolitica*, adenovirus, astrovirus, rotavirus, norovirus, sapovirus, *E.histolytica*, *G. lamblia*, *Cryptosporidium* spp. ve *Dientamoeba fragilis* tek bir testte tanımlanabilmektedir. İlk olarak viral, bakteriyel, paraziter etkenlerin DNA/RNA'sı kitle belirtilen protokole göre ekstrakte edilmiştir. Daha sonra amplifikasyon, saptama ve veri analizi Rotor- Gene 6000 RT-PZR sistem (Qiagen, Germany) üretici talimatları doğrultusunda yapılmıştır.

BULGULAR

Çalışmaya dahil edilen 471 hastanın 284'ü (%60) erkek, 187'si (%40) kadındı. 471 hastadan 471 kültür örneği alındı. Erkeklerin yaş ortalaması 23,09±22,32, kadınların yaş ortalaması 24,76±22,93 idi. Hastaların 281'i (%60) çocuk, 190'u (%40) yetişkindi (18 yaş üstü). 281 çocuktan 144'ü (%51,2) pozitif, 190 erişkinden 86'sı (%45,3) pozitif olarak saptanmıştır. Cinsiyetlere göre pozitiflik arasında anlamlı fark saptanmamıştır. Erkeklerde %48,9; kadınlarda %48,7 pozitiflik saptanmıştır.

Moleküler Yöntemlerle Gastroenterit Etkeni Saptanması

471 dışkı örneğinin 241'inde (%51,2) etken negatif iken, 230'unda (%48,8) etken izole edildi. Etken izole edilen 230 örnekten 190'nında (%40,3) tek etken, 40'ında (%8,5) iki veya daha fazla etken saptanmıştır (Tablo 1, 2). Tekli mikroorganizma saptanan 190 örnekten 149'u (%31,6) bakteriyel, 26'sı (%5,5) paraziter, 15'i (%3,1) viral etkenlerdir. 149 bakteriyel etkenin 108'i (%23) *Salmonella* spp, 14'ü (%6) *EHEC*, sekizi (%3,5) *Clostridium difficile* toxin B, sekizi (%3,5) *Campylobacter* spp., yedisi (%3) *Aeromonas* spp., ikisi (%0,8) *Yersinia enterocolitica*, ikisi (%0,8) *Enterotoxigenic E. coli* (ETEC) olarak saptandı. 26 paraziter etkenden 18'i (%7,8) *Giardia lamblia*, altısı (%2,6) *Dientamoeba fragilis*, ikisi (%0,8) *Cryptosporidium* spp olarak saptandı. 15 viral etkenden 11'i (%4,7) *Norovirüs*, dördü (%1,7) *Astrovirüs* olarak izole edilmiştir (Tablo 1).

Tablo 1. Tekli enfeksiyon etkenlerinin dağılımı

Bakteriyel etkenler	n (%)
<i>Salmonella</i> spp.	108 (23)
<i>EHEC</i>	14(6)
<i>Clostridium difficile</i> toxin B	8 (3,5)
<i>Campylobacter</i> spp.	8 (3,5)
<i>Aeromonas</i> spp.	7 (3)
<i>Yersinia enterocolitica</i>	2 (0,8)
<i>Enterotoxigenic E. coli</i> (ETEC)	2 (0,8)
Toplam	149 (31,6)
Paraziter etkenler	
<i>Giardia lamblia</i>	18 (7,8)
<i>Dientamoeba fragilis</i>	6 (2,6)
<i>Cryptosporidium</i>	2 (0,8)
Toplam	26 (5,5)
Viral etkenler	
<i>Norovirus</i> (GI/GII/GIV)	11 (4,7)
<i>Astrovirus</i>	4 (1,7)
Toplam	15 (3,2)

Tablo 2. Eşlik eden enfeksiyonlar

Mikroorganizma	Örnek Sayısı			
<i>Aeromonas</i> spp.	<i>Clostridium difficile</i> toxin B	1		
<i>Aeromonas</i> spp.	<i>Rotavirüs</i> (A)	1		
<i>Astrovirüs</i>	<i>Norovirus</i> (GI/GII/GIV)	2		
<i>Campylobacter</i> spp	<i>Astrovirus</i>	1		
<i>Clostridium difficile</i> toxin B	<i>Rotavirüs</i> (A)	5		
<i>Clostridium difficile</i> toxin B	<i>Astrovirus</i>	6		
<i>Clostridium difficile</i> toxin B	<i>Shigella</i> spp.	1		
<i>Clostridium difficile</i> toxin B	<i>Dientamoeba fragilis</i>	1		
<i>Dientamoeba fragilis</i>	<i>Norovirus</i> (GI/GII/GIV)	1		
<i>EHEC</i>	<i>Giardia lamblia</i>	1		
<i>EHEC</i>	<i>Norovirus</i> (GI/GII/GIV)	2		
<i>EHEC</i>	<i>Dientamoeba fragilis</i>	3		
<i>EHEC</i>	<i>Shigella</i> spp.	1		
<i>ETEC</i>	<i>Cryptosporidium</i> spp.	2		
<i>Salmonella</i> spp.	<i>Norovirus</i> (GI/GII/GIV)	3		
<i>Salmonella</i> spp.	<i>Astrovirus</i>	1		
<i>Salmonella</i> spp.	<i>Rotavirüs</i>	2		
<i>Yersinia enterocolitica</i>	<i>Rotavirüs</i> (A)	1		
<i>Salmonella</i> spp.	<i>EHEC</i>	<i>Dientamoeba fragilis</i>	1	
<i>Clostridium difficile</i> toxin B	<i>Norovirus</i> (GI/GII/GIV)	<i>Rotavirüs</i> (A)	2	
<i>Clostridium difficile</i> toxin B	<i>Cryptosporidium</i>	<i>Campylobacter</i> spp.	1	
<i>Campylobacter</i> spp.	<i>Yersinia enterocolitica</i>	<i>Giardia lamblia</i>	<i>Astrovirus</i>	1
Toplam			40	

TARTIŞMA

Türkiye'de en önemli sağlık problemlerinden birisi gastrointestinal sistem enfeksiyonlarıdır. Enfeksiyöz nedenli gastroenteritler viral, bakteriyel ve parazitik olarak üç farklı sınıfta incelenirler. Bu kadar çok çeşitli mikroorganizmanın en hızlı, en kolay en yüksek duyarlılıkta saptanabilmesi için moleküler yöntem olan multiplex PZR testleri kullanılmaya başlanmıştır. Rutinde kullanılan yöntemlerle patojen saptanabilme oranı daha düşüktür. Martin ve ark. ishali hastalarda yaptığı bir çalışmada konvansiyonel yöntemlerle %27,7 oranında etken saptarken, multiplex PZR yöntemiyle %66,2 oranında etken saptayabilmişlerdir [4]. Farklı çalışmalarda başka bir multiplex PZR kitiyle etken saptanma oranı %33,0- %62,7 oranında bildirilmiştir [5, 6, 7, 8]. Konvansiyonel yöntemlerle yapılan çalışmalarda gastroenterit etkenleri Hollanda'da %6,4, Amerika Birleşik Devletleri'nde % 8,3, Yeni Zelanda'da %18 olarak saptanmıştır. Aynı laboratuvarlarda multiplex PZR yöntemi kullanılan çalışmalarda etken saptanabilme oranınının 2-4 kat arttığı belirtilmiştir [3, 9, 10, 11]. Multipleks PZR yöntemiyle moleküler tanı testleri epidemiyolojik surveyans, araştırma projeleri, salgınlarda önemli role sahiptir [3, 12]. Saptama oranlarının geniş aralıkta olmasını hasta gruplarının farklılığına bağlamışlardır. Özellikle hastanede yatan hastalarda ayakta takipli hastalara göre etken saptanma oranı çok yüksektir. Yapılan bir çalışmada hastanede yatan hastalarda etken saptanabilme oranı %40,4 iken ayakta tedavi alanlarda %32,9 olarak saptanmıştır. Bu çalışmada 471 dışkı örneğinin 230'unda (%48,8) etken izole edilmiş ve multiplex PZR yöntemiyle etken saptanma oranı yapılan çalışmalarla uyumludur. Multiple enfeksiyonların sıklığında artış nedenini kötü hijyen ve sanitasyon koşullarına bağlı olarak çocuklar arasında asemptomatik olarak dolaşan patojenlere bağlı olabileceği düşünülmüştür. Eibach ve ark. yaptığı çalışmada koenfeksiyon oranını %15,2 olarak bulmuşlardır [3]. Martin ve ark. sadece bakteriyel patojenleri saptadığı bir çalışmada koenfeksiyon oranını %15 olarak bulmuşlardır [4]. Farklı ticari multiplex PZR kitlelerinin kullanıldığı üç farklı çalışmada koenfeksiyon oranı %14,2, %31,5, %33,5 olarak bulunmuştur [4,13-15]. Piralla ve ark. yaptığı çalışmada koenfeksiyon oranı %27,2 olarak bulunmuştur [7]. Bu çalışmadaki koenfeksiyon oranı birçok çalışmaya göre daha azdır (%8,5). Literatürde bu çalışmada kullanılan Gastrofinder Multiplex PZR kiti ile aynı markayı kullanan yayın yok denecek kadar azdır. Ülkemizden bakteriyel, parazitik ve viral etkenlerin bir arada çalışıldığı benzer bir yayın görülmüştür.

Bu çalışmada en sık bakteriyel etkenler (%31,6) saptanmıştır. İkinci sıklıkta (%5,5) parazitik etkenler, üçüncü sıklıkta (%3,2) viral etkenler, %8,5 de multipl enfeksiyonlar tespit edilmiştir. Bakteriyel enfeksiyonlar özellikle gelişmekte olan ülkelerde en sık akut gastroenterit etkeni iken bu sıralamayı parazitik ve viral etkenler izlemektedir. Afrika'nın kırsal bölgesinde 443 hasta ve 239 kontrol grubunda multiplex PZR testi yapılan bir çalışmada %96,6 oranında etken saptanmıştır [3]. Semptomatik olgularda koenfeksiyon oranı %75 üzerinde saptanmış ve en sık bakteriyel etkenler saptanmıştır. Bakteriyel etkenlerden olan *Salmonella* ve *shigella* özellikle gelişmekte olan ülkelerin kırsal kesimlerinde en sık izole edilen bakterilerdir. *Salmonella* enfeksiyonu dünyada

yaygın bir zoonoz olup ülkemizden konvansiyonel yöntemlerle yapılan çalışmalarda %2-11 arasında görülmüştür [16]. 245 pediatrik hastada yapılan bir çalışmada konvansiyonel yöntemlerle 61 hastada bakteriyel etken saptanmışken, aynı hasta grubunda multiplex pqr yöntemi ile 78 hastada bakteri tanımlanmıştır [17]. *Salmonella* bakterilerinin saptanması açısından literatürde konvansiyonel ve moleküler yöntemleri arasında uyumsuzluk bildiren çalışmalar mevcuttur [17]. Bu çalışmada sadece moleküler yöntemin kullanılmış olması *Salmonella spp* açısından dezavantajdır. *Campylobacter* türleri, gastroenterit olgularından, ülkelere ve bölgelere göre değişik oranlarda izole edilmektedir. Gelişmiş ülkelerde olgu sayısı 13/100.000 iken, gelişmekte olan ülkelerde %5-20 oranında prevalans bildirilmektedir (18). Bu çalışmada *Campylobacter* izolasyonu %3,5 olarak bulunmuştur.

Protozoonlara bağlı gastroenteritlerin prevalansı gelişmekte olan ülkelerde gelişmiş ülkelere göre 2-10 kat daha fazladır. Gelişmiş ülkelerde daha çok viral etkenlerden rotavirüs ve norwalk benzeri virüsler önemli etkenlerdir [19]. Hollanda'dan Maas L ve ark.'nın yaptığı çalışmada gastrointestinal semptomları olan çocuk hastalarda multipleks PZR yöntemiyle protozoonlar tanımlanmıştır. Real time PZR ile 163 hastanın 114'ünde (%70) protozoon pozitif bulunmuştur. PZR pozitif hastaların 67'sinde (%59) tek protozoon, 45'inde (%39) iki protozoon, ikisinde üç protozoon bulunmuştur. 114 pozitif parazitin 101'i (%89) *D. fragilis*, 49'u (%43) *Blastocystis spp*, 10'u (%9) *G. lamblia* olarak saptanmıştır [9]. Bu çalışmada en fazla *Giardia intestinalis* ardından *D. fragilis* saptanmıştır. İkili, üçlü protozoon rastlanmamıştır.

Onori ve ark.'nın İtalya'dan yaptığı çalışmada multipleks PZR yöntemiyle 245 dışkı örneğinden 78'inde bakteri (dokuzunda *Salmonella spp*, üçünde *Shigella spp*, 19'unda *Campylobacter spp* üçünde *Y. enterocolitica*, beşinde *Aeromonas spp*, 25'inde *C.perfringens* 11'inde toxigenic *C.difficile*, ve üçünde VTEC, birinde *E.coli* (O157:H7)) 167'sinde virus (11 *Astrovirus*, dört *Norovirus* G1, *Norovirus* G2, 110'unda *Rotavirus*, 24'ünde *Adenovirus*) tespit edilmiştir [10]. Bu çalışma da en fazla bulunan bakteriyel etken *Salmonella spp* %23, parazitik etken *Giardia lamblia*, viral etken *Norovirus* %4,7, ikinci sıklıkta *Astrovirus* %1,7'dir.

Beckmann ve ark.'nın Almanya'dan yaptığı çalışmada 312 dışkı örneğinden yetişkinlere ait 185'inin dışkı örneğinden multipleks PZR yöntemi ile 21' inde (%11) pozitiflik saptanmıştır. Bunların %4'ünde ETEC saptanmıştır. 127 pediatrik örneğin 66'ında pozitiflik bulunmuştur. Bunların %27'inde *Rotavirus* saptanmıştır [11]. Bu çalışmada yetişkinlerde pozitiflik oranı %45,3, çocuklarda %51,2'dir.

Günümüzde geliştirilen multipleks moleküler test panelleri mikrobiyoloji laboratuvarında hızlı ve duyarlı tanıya gitmeye yardımcı olur. Hangi ticari testin uygulanacağı test performansı, maliyet, iş akışı testin uygulandığı hasta popülasyonu gibi birtakım faktörlere bağlıdır. Açık sistem olması nedeniyle kontaminasyon riski her zaman bulunmaktadır. Pratik olması, test kapasitesinin fazla olması, tanı zamanını kısaltması avantajları arasında sayılabilir. Özellikle kritik hasta grubunda, uzamış gastroenteritlerde, uygunsuz

antibiyotik kullanımını engellemek için multiplaks PZR testleri kullanılması uygun olacaktır. Bu çalışmada multiplex PZR testine ek olarak testin kullanılmaması, hastaların klinik özelliklerine ayrıntılı ulaşılamamış olmaması çalışmanın kısıtlılıklarından biridir. Multiplaks PZR testlerinde dışkıda kontaminasyon, kolonizasyon ve enfeksiyon ayırımı yapılamadığından ileri testlere ihtiyaç olması diğer bir kısıtlılıktır.

Sonuç olarak, özellikle akut gastroenterit ön tanıli hastalarda kesin tanı için laboratuvar testlerine ihtiyaç olduğundan özellikle sanitasyonun düşük olduğu, düşük sosyoekonomik düzeyli bölgelerde hızlı tanı için multiplex PZR testleri rutin tanıda faydalıdır.

Çıkar Çatışması: Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması olmadığını bildirmişlerdir.

Finansal Destek: Herhangi bir finansal destek alınmamıştır.

Conflict of Interests: The authors declare that they have no conflict of interest.

Financial Disclosure: No financial support was received.

KAYNAKLAR

1. Binnicker MJ. Multiplex molecular panels for diagnosis of gastrointestinal infection; Performance, result interpretation and cost effectiveness. J Clin Microbiol. 2015;53:3723-7.
2. Güneş H, Gökalp AA, Gülen Dumrul, Kaya AD. ADÜ Tıp Fakültesi Dergisi 2012;13:21-4.
3. Eibach D, Krunkamp R, Hahn A, et al. Application of a multiplex PZR assay for the detection of gastrointestinal pathogens in a rural African setting. BMC Infect Dis. 2016;16:150.
4. Martina A, Ayala AP, Chaves F, Lora D, Orellana A. Evaluation of the multiplex PCR Allplex-GI assay in the detection of bacterial pathogens in diarrheic stool samples. J Microbiol Methods. 2018;144:33-6.
5. Khare R, Espy MJ, Cebelinski E, et al. Comparative evaluation of two commercial multiplex panels for detection of gastrointestinal pathogens by use of clinical stool specimens. J Clin Microbiol. 2014;52:3667-73.
6. Huang RS, Johnson CL, Pritchard L, Hepler R, Ton TT, Dunn JJ. Performance of the Verigene® enteric pathogens test, Biofire FilmArray™ gastrointestinal panel and Luminex xTAG® gastrointestinal pathogen panel for detection of common enteric pathogens. Diagn Microbiol Infect Dis. 2016;86:336-9.
7. Piralla A, Lunghi G, Ardissino G et al. FilmArray™ GI panel performance for the diagnosis of acute gastroenteritis or hemorrhagic diarrhea. BMC Microbiol. 2017;17:111.
8. Park S, Hitchcock MM, Gomez CA, Banaei N. Is follow-up testing with FilmArray gastrointestinal multiplex PCR panel necessary? J Clin Microbiol. 2017;55: 1154-61.
9. McAuliffe GN, Anderson TP, Stevens M, et al. Systematic application of multiplex PCR enhances the detection of bacteria, parasites, and viruses in stool samples. J Infect. 2013;67:122-9.
10. de Boer RF, Ott A, Keszyüs B, Kooistra-Smid AMD. Improved detection of five major gastrointestinal pathogens by use of a molecular screening approach. J Clin Microbiol. 2010;48:4140-6.
11. Khare R, Espy MJ, Cebelinski E, Boxrud D, Sloan LM, Cunningham SA, Pritt BS, Patel R, Binnicker MJ. Comparative evaluation of two commercial multiplex panels for detection of gastrointestinal pathogens by use of clinical stool specimens. J Clin Microbiol. 2014;52:3667-73.
12. Gray J, Coupland Lj. The increasing application of multiplex nucleic acid detection tests to the diagnosis of syndromic infections. Epidemiol Infect. 2014;142:1-11.
13. Khare R, Espy MJ, Cebelinski E, et al. Comparative evaluation of two commercial multiplex panels for detection of gastrointestinal pathogens by use of clinical stool specimens. J. Clin. Microbiol. 2014;52:3667-73.
14. Voca, C, Rimoldi SG, Pagani C, et al. Comparative evaluation of the new xTAG GPP multiplex assay in the laboratory diagnosis of acute gastroenteritis. Clinical assessment and potential application from a multicentre Italian study. Int J Infect Dis. 2015;34: 33-7.
15. Buss SN, Leber A, Chapin K, et al. Multicenter evaluation of the BioFire FilmArray gastrointestinal panel for etiologic diagnosis of infectious gastroenteritis. J Clin Microbiol 2015;53:915-25.
16. Güneş H, Gökalp AA, Gülen D, Kaya AD. Gastroenteritli Olgularda Salmonella - Shigella Cinsi Bakterilerin İzolasyon Sıklığı ve Antibiyotik Direnç Paternlerinin Değerlendirilmesi. ADÜ Tıp Fakültesi Derg. 2012;13: 21 - 4.
17. Onori M, Coltella L, Mancinelli L, et al. Evaluation of a multiplex PZR assay for simultaneous detection of bacterial and viral enteropathogens in stool samples of paediatric patients. Diagn Microbiol Infect Dis 2014;79:149-54.
18. Kayman T, Abay S, Hızlısoy H. *Campylobacter* Türlerinin Fenotipik Yöntemler ve Multiplaks Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile Tanımlanması ve Antibiyotik Duyarlılıkları. Mikrobiyol Bul. 2013;47:230-9.
19. Gülen A, Hacimustafaoğlu M. Çocuklarda akut infeksiyöz gastroenteritlere genel yaklaşım. ANKEM Derg. 2013;27:147-57.