



Hazırlayan: Aydan Karagül

Sağlık Bilimleri Üniversitesi Antalya Eğitim ve Araştırma Hastanesi

Afet Sonrasında Artış Olması veya Salgın Yapması Olası Gastrointestinal Sistem Virüslerine ve Laboratuvar Tanısına Bakış

Elektrik, temiz su ve sağlık tesislerine erişimin sınırlı olduğu afet sonrası durumlarda akut ishal insidansında artış meydana gelebilir. Deprem sonrası temiz suya erişimin zorlaşması, olağan hijyen uygulamalarının bozulması, tuvaletlerin ortak kullanımı gibi koşullar da enfeksiyon riskini artırmaktadır.

Bakteriler, parazitler ve virüsler (daha yaygın) olmak üzere birçok farklı mikroorganizma akut gastroenterit etkeni olabilir. Viral gastroenteritlerin en yaygın etkenleri; Rotavirüsler, Norovirüsler, Hepatit A virüs (HAV) ve hepatit E virüsüdür (HEV). Klinik şüpheli olgularda en kısa sürede uygun klinik örnekler toplanmalı ve etkenlere yönelik testler uygulanmalıdır.

Klinik örnekler

- Uygun örnekler arasında dışkı, kusmuk, gıda ve çevre örneklerinde sayılabilir.
- Dışkı örneği 2- 4 gramdan oluşmalı, dışkıya idrar karışmamalı ve tuvalet kağıdı ile temas etmemelidir.
- Bebeklerde dışkı alınırken bezi ters bağlanarak spatula ile örnek alınacağı konusunda bilgi verilmelidir.

Tanı Testleri

- Dışkı makroskopik ve mikroskopik olarak incelenerek başlanmalıdır. Dışkı örneği makroskopik olarak kıvam, renk olarak ve mukus/pü/kan içerip içermemesi açısından değerlendirilmelidir.
- Mikroskopik olarak lökosit/eritrosit ve dışkıda parazit varlığı da araştırılmalıdır.
- Viral etkenler için Antijen tayini (Adeno ve Rotavirüs, Norovirüs) ve viral nükleik asit testleri kullanılarak tanıya gidilmesi sağlanmalıdır.

Tüm testler için toplanan örnekler hemen çalışılmayacaksa +4°C'de tutulmalıdır. Antijen testleri, hastalık başlangıcındaki ilk 4 günde, %90'dan daha yüksek oranda virüsleri saptayabilirken, sonraki günlerde alınan örneklerde bu oranın gittikçe düştüğü ve semptomların başlangıcından sekiz gün sonrasında örnek toplandığı takdirde antijen testleri ile virüslerin nadiren saptanabildiği akılda tutulmalıdır.

Afet sonrası artan gastroenterit veya salgın durumlarında sendromik multipleks gerçek zamanlı PCR (RT-PCR) panelleri; aynı anda birden fazla viral etkenin saptanmasına ve hızlı tanıya imkan sağladıkları için çoğunlukla tercih edilmektedir. Bu testler yüksek duyarlılık ve özgüllüğe sahiptir. Virüslerin dışkıda bulunma süresi, belirtilerin uzun sürmesi durumunda 3 haftaya kadar uzayabilir. Bu süre içinde tanıya gitmek gerekiyorsa da sendromik multipleks RT-PCR testler tercih edilmelidir.

Rotavirüs

Reoviridae familyası içinde yer alırlar. Çıplak, ikozahedral, zarfsız, çift kılıflı, 11 parçalı çift iplikli RNA virüsüdür. Yedi alt gruptan (A-G) oluşur. Rotavirüs A, B ve C insanlarda hastalık yapar, Rotavirüs A, enfeksiyonların büyük çoğunluğundan sorumludur.

Özellikle gelişmekte olan ülkelerde her yaş grubunda olmakla birlikte, 5 yaş altı çocuklarda ağır gastroenteritin ve bebek ölümlerinin en önemli nedenlerinden biridir. Virüs, akut hastalıktan hemen önce ve sonra dışkı ile atılmaktadır. Fekal-oral yolla veya kontamine olmuş salata, meyve gibi çiğ gıdalara temas yoluyla bulaşır. İnsandan insana bulaşması genellikle kontamine olmuş ellerle gerçekleşir. Virüs çevresel şartlardan etkilenmemektedir, dış ortamda uzun süre canlı kalabilmekte ve inaktivasyona direnç göstermektedir. Bu yüzden afet dönemlerinde salgınlara sık rastlanmaktadır. Hastalık, kışın ve ilkbahar aylarında artar. Enfeksiyonun şiddeti yaşa bağlıdır; 6 ay- 2 yaş arası çocuklarda semptomatik enfeksiyon oluşurken, büyük çocuk ve yetişkinlerde genellikle asemptomatik seyreder. Hastalığın tipik semptomları; yaklaşık 2-4 günlük inkübasyon dönemi sonrasında genelde aniden ateş ve kusma, ardından sayısı 10'a ulaşan kansız ve sulu ishal ile karakterize olmasına rağmen, %20 oranında olguda dışkıda mukus ta bulunabilir. Dışkı mikroskopisi genellikle normal bulunmakta, bazı vakalarda her alanda 1-2 lökosit, bazen de az sayıda eritrosit tespit edilmektedir. Hastalık 4-8 günde kendi kendini sınırlar. Genellikle tam iyileşme ile sonuçlanır. Dünya çapında Rotarix (RV1) ve RotaTeq(RV5) olmak üzere onaylı iki farklı aşı mevcuttur.

Rotavirüs sadece klinik özelliklerine bakılarak tanımlanması mümkün değildir ve rotavirüs ishalleri için standart tedavi rehidratasyon ve destekleyici tedavi olduğundan spesifik mikrobiyolojik tanıya da çoğunlukla başvurulmaz. Ancak afet sonrasında epidemiyolojik veri elde edilmesi ve salgın durumunda rotavirüs ile ilgili tanı testler istenmelidir. Rotavirüs gastroenteritinin yayılmasını önlemek, gereksiz ve potansiyel olarak zararlı antibiyotiklerin kullanılmasını engellemek de kesin tanıyla mümkündür.

Tanı

Afet sonrası rotavirüs tanısında antijen testleri ve/ veya polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) gibi moleküler yöntemler kullanılabilir

Salgın sırasında çok sayıda örnek çalışılabileceği için uygun zamanda alınan dışkı örneklerinde antijen testi olarak enzim-işaretli immünoassay (ELISA) testleri tanı için

kullanılabilir. ELISA testlerinin duyarlılığı PCR testine göre daha düşüktür özgüllüğü ise benzerdir, ELISA ile elde edilen negatif sonuç PCR ile doğrulanmalıdır.

Lateks aglütinasyon testleri (LA) testlerinin duyarlılığı %80-90 iken, özgüllüğü ise yüksektir. Duyarlılığı düşük olması nedeniyle taramalarda kullanılması önerilmez.

Pratik olması, kolay ticari elde edilebilirliği ve tek tek çalışılabilmesi ve kısa sürede sonuç vermesi nedeniyle tercih edilen immünokromatografik testler ELISA testleriyle benzer veya biraz düşük duyarlılıktadır. Rotavirüs grup A'nın VP6 antijenine veya kapsit proteinine karşı monoklonal antikoları içeren ticari kitler mevcuttur. Testlerdeki duyarlılık %86,7-100, özgüllük ise %87,5-95 arasında bulunmuştur. Bu nedenlerle duyarlılığı yüksek olan immünokromatografik yöntemle çalışan testleri de afet durumlarında tercih edebiliriz. Tablo 1'de bazı ticari antijen testlerinin özellikleri verilmiştir.

Tablo 1. Kullanılan ticari antijen testlerinin özellikleri

YÖNTEM	LAT	IKT	IKT	IKT	ELİSA
KİT	Slidex	Dipstick ROTA	SAS Rota Test	ASAN Easy Test Rota strip	VIDAS Rotavirüs
HEDEF	Anti rotavirüs monoklonal antikor	Kapsit protein	Kapsit protein	VP6	VP6
ZAMAN	2 dakika	15 dakika	15 dakika	15 dakika	30 dakika
DUYARLILIK	85.7%	100%	100%	86,7	98,1
ÖZGÜLLÜK	100	95	95	87,5	97,3

Viral gastroenterite en sık olarak neden olan rotavirüs grup A antijenini ve adenovirüs (serogrup 40 ve 41)'un birlikte arandığı kombine testler iki etkeni aynı anda saptayabildiğinden daha da avantajlı testler olarak karşımıza çıkar. Bu kombine testlerinin duyarlılığı %86,7-100; özgüllüğü ise %87,5-95 arasında bulunmuştur. Ayrıca rotavirüs grup A antijeni, adenovirüs (serogrup 40 ve 41) ve norovirüs GI ve/veya GII'yi saptayan üçlü kombine antijen testlerini mevcut olmasına rağmen duyarlılık ve özgüllüklerini değerlendirerek kullanımı uygun olacaktır.

Dışkı numunelerinde rotavirüsün belirlenmesi için PCR güvenilir bir testtir. Sendromik multipleks PCR panelleri içinde rotavirüsler yer almaktadır. Bu testler yüksek duyarlılık ve özgüllük, aynı anda birden fazla ajanı araştırabilme ve hızlı sonuç alabilme yeteneği gibi avantajlara sahiptir.

Norovirüs

Caliciviridae ailesine ait olup, yuvarlak biçimli tek zincirli RNA virüsüdür. Beş geno grubu vardır (GI-GV). GI, GII ve GIV daha çok insanlarda bulunur. Son derece bulaşıcıdır. Norovirüslerin büyük insan rezervuarı, düşük infeksiyon dozu (sadece 10 - 100 virion hastalığa neden olabilir), çevre şartlarına (ısı, klorlama, asit, alkol, vb.) dayanıklı ve virüse karşı gelişen immünitenin kısa ömürlü (en fazla 18 ay) olması gibi faktörler virüsün afet dönemlerinde salgınlara yol açmasına eden olabilir. Ayrıca, su (havuzlarda ve bazen de yetersiz bir şekilde işlenen musluk suyu) ve enfekte olan bir kişi tarafından işlenmiş herhangi bir gıda da enfeksiyonların artışında rol oynayabilmektedir.

Her yaş grubunu etkileyebilir. Enfeksiyonlar sıklıkla semptomatiktir ve 24-48 saat inkübasyon süresi sonrası bulantı, kusma, ve ateşin birlikte görüldüğü diyarelere neden olur. Virüsler enfekte olan kişilerin dışkı ve kusmuğunda bulunmaktadır. Bulaşma fekal-oral yolla veya kusmuğun aerosolleri ile olmaktadır. İlk belirtilerden 7 gün boyunca virüs buralarda bulunabilir. İnfeksiyon sonrası bağışıklık, yüksek antikor titrelerine rağmen kısa sürelidir, bu nedenle 6 ay içerisinde tekrar infeksiyon görülebilir.

Tanı:

Norovirüslerin laboratuvar tanısı ve epidemiyolojik araştırmalar için örnek toplanmasına hastalığın erken safhasında ve salgının ilk gününden itibaren başlanmalıdır. Bu amaçla incelenecek örnekler; dışkı, kusmuk, serum, su ve gıdalardır. Salgınların incelenmesinde çevresel kaynaklardan alınan örnekler önemli olmaktadır. Bu amaçla suda virüsün tespiti zor olduğundan su numunesi fazla miktarda alınmalı, su/gıda örnekleri hemen incelenmeyecekse kısa süreli olarak buzdolabı ısısında (+4°C) bekletilmelidir.

Virüsün ELISA, antijen tayini veya PCR ile dışkıda saptanması ya da virüse karşı antikorların hastanın kan serumunda belirlenmesi ile tanının konması uygundur. İmmünokromotografik (İKT) testlerin duyarlılığı düşük olduğundan tarama için uygun değildir. Norovirüs ticari İKT testlerinin duyarlılık yüzdeleri Tablo. 2'de verilmiştir.

Norovirüs antijeni saptamak için tasarlanmış ticari olarak satılan RIDASCREEN ve IDEIA üçüncü jenerasyon ELISA kitleri tanıda kullanılacak testlere örnektir. Bu ticari kitler Norovirüs GI ve GII genotiplerine ait antijenleri saptayabilmektedir. Bu testler ucuz, hızlı ve basit bir tanı yöntemi olup, daha önce yapılan çeşitli çalışmalarda da yüksek özgüllük ve duyarlılık oranları bildirilmiştir.

Tablo 2: Norovirüs ticari İKT teslerinin duyarlılık yüzdeleri

KİT	RİDA(®)QUICK	ImmunoCardSTAT	NOROTOP	SDBIOLINE
Genogrup I'in duyarlılığı	%17	%26	%52	%23
Genogrup II için duyarlılık	%64	%39	%50	%54
GII.4 için duyarlılık	%78	%59	%61	%67

Dışkı numunelerinde norovirüsün belirlenmesi için de PCR güvenilir bir testtir. Sendromik multiplaks PCR panellerinde hedef norovirüs G1 ve G2'dir.

Serolojik testler de tanıda kullanılabilir. Bunun için alınan serum örnekleri hastalığın akut (hastalığın ilk 5 gününde) ve konvelesan fazında (hastalık sonrası 3–6 haftaya kadar) toplanmalıdır. Erişkin hastalardan 6 ml ve çocuklardan 4 ml kan alınması yeterli olmaktadır. Hasta serumlarında iki hafta arayla 4 kattan fazla antikor (IgG) artışı ile tanı konulabilmektedir. Salgın durumunda, epidemiyolojik hikayesi ve klinik tanımı uyumlu olan vakalar, virolojik metodlar ile de doğrulanmış ise kesin vaka olarak değerlendirilir.

Korunma; Norovirüs Gastroenteritinde virüs bulaşını istendiği biçimde azaltmak zor olmasına rağmen kontamine yüzeylerin temizliği önemlidir.

Hepatit A virüsü (HAV)

İkozahedral, zarfsız ve tek zincirli RNA genomuna sahip olan bir virüs türüdür. Hepatit A Virüsü Picornaviridae ailesine ait olup, Hepatovirüs cinsinde sınıflandırmaktadır.

HAV atık su, kirletilmiş toprak, gıda ürünleri ve kontamine su yoluyla yayılabilmektedir. HAV, özellikle gıda, su ve toprakta, farklı ortamlarda yaşamını sürdürebilmektedir. Enfeksiyözvirüs çevrede uzun zaman canlı kalabildiğinden, su enfeksiyöz virüsün en önemli kaynağı olarak sayılmaktadır. Virüs musluk suyunda 60 güne kadar, nehir suyunda 6 haftadan fazla yeraltı suyunda 8 haftadan fazla ve deniz suyunda 30 haftaya kadar dayanabilmektedir. HAV, farklı toprak çeşitlerinde hayatını sürdürebilir ve 12 haftaya kadar enfeksiyöz kalabilmektedir Afet durumlarında Kanalizasyon arıtımı ve kötü hijyenik koşullar nedeniyle hepatit A virüs enfeksiyonlarında artışı beklenebilir. Enfeksiyondan sonra uzun süren (yaşam boyu olabilir) bağışıklık gelişir; bu yüzden enfeksiyonun ortaya çıkışı o bölgedeki bağışık kişi sayısına bağlıdır. Aktif immünite ölü virüs aşısı ile kazanılır, pasif immünite ise insan immün serum globülünü ile kazanılır

Hepatit A virüsü alındıktan sonra kuluçka süresi, alınan virüs sayısına bağlı olarak değişmekle beraber, 10 ile 50 gün (ortalama 30 gün) arasında değişir. Az sayıda virüs ile oluşan enfeksiyonlar uzun kuluçka sürelerine sahiptirler. Bağırsaktan karaciğere geçer, enfekte olan karaciğer hücrelerinin immün yıkımından sonra; ateş, halsizlik, iştahsızlık, karın ağrısı ve bazen de sarılık gibi semptomlar görülebilir. Virüs atılımı inkübasyon süresinin ikinci yarısında zirveye ulaşır (10-14 gün), genelde sarılığın başlangıcından sonra 7 gün içinde sonlanır.

Tanı:

Hastanın kan serumunda hepatit A virüsüne karşı IgM-sınıfı antikorların tespit edilmesi ile konur.

KAYNAKLAR

1. Lee SY, Hong JH, Lee SW, Lee M. Comparisons of latexagglutination, immunochromatographyandenzymeimmunoassaymethodsforthedetection of rotavirüsantigen. Korean J LabMed 2007; 27: 437-441.
2. Fernandez, D., I. Valle, R. Llamas, M. Guerra, L. Sorell, and J. Gavilondo. Rapiddetection of rotavirüs in faecesusing a dipstickssystemwithmonoclonalantibodiesandcolloidalgold as marker. J. Virol. Methods 1994 48:315-323.
3. Weitzel T.,Reither K., Mockenhaupt F.P., Stark K., Ignatius R., Saad E., Seidu-Korkor A., Bienzle U., Schreier E. Fieldevaluation of a rota-andadenovirüsimmunochromatographicassayusingstoolsamplesfromchildrenwithacutediarrhea in Ghana. J. Clin. Microbiol. 2007;45:2695–2697.
4. Kim J., Kim H.S., Kim H.S., Kim J.S., Song W., Lee K.M., Lee S., Park K.U., Lee W., Hong Y.J. Evaluation of an immunochromatographicassayfortherapidandsimultaneousdetection of rotavirüsandadenovirüs in stoolsamples. Ann. Lab. Med. 2014;34:216–222.
5. Ramanan P, Bryson AL, Binnicker MJ. et al.Syndromic panel-basedtesting in clinicalmicrobiology. ClinMicrobiolRev 2017; 31: e00024-17.
6. Diagnostic Accuracy of Seven Commercial Assays for Rapid Detection of Group A Rotavirüs Antigens Jérôme Kaplon,corresponding authora Céline Fremy,a,* Sylvie Pillet,b Lucile Mendes Martins,c,* Katia Ambert-Balay,a Serge L. Aho,d and Pierre Pothier
7. Comparisons of Latex Agglutination, Immunochromatography and Enzyme Immunoassay Methods for the Detection of Rotavirüs Antigen Sook Young Lee, M.D.1
8. Schmid M, Oehme R, Schalasta G, Brockmann S, Kimmig P, Enders G. Fast detection of norovirüs using a real-time PCR assay and automated sample preparation. BMC Infect Dis. 2004; 4:15.
9. Evaluation of the Dako IDEIA norovirüs EIA assay for detection of norovirüs using faecal specimens from Australian gastroenteritis outbreaks.

10. Dimitriadis A, Bruggink LD, Marshall JA. Pathology. 2006 Apr;38(2):157-65. doi: 10.1080/00313020600559645. PMID: 16581657
11. Bai XL, Lim SH, Seng EH, Loke WL, Chan KP. Evaluation of two commercial enzyme immunoassays for rapid detection of norovirus antigen in human stool specimens Brookline, MA: International Society for Infectious Diseases, 2008: 12: e474.
12. Sanz JC, Revilla A, Fernández M, Herranz N, Moreno S, SánchezFauquier A. Assessment of two methods of antigenic detection by ELISA for the diagnosis of norovirus outbreaks. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2006; 24(9): 564-7.
13. Castriciano S, Luinstra K, Petrich A, et al. Comparison of the RIDASCREEN norovirus enzyme immunoassay to IDEIA NLV GI/GII by testing stools also assayed by RT-PCR and electron microscopy. *J Virol Methods*. 2007; 141(2): 216-9.
14. Kirby A, Gurgel RQ, Dove W, Vieira SC, Cunliffe NA, Cuevas LE. An evaluation of the RIDASCREEN and IDEIA enzyme immunoassays and the RIDAQUICK immunochromatographic test for the detection of norovirus in faecal specimens. *J Clin Virol*. 2010; 49(4): 254-7.
15. Amjad M. An overview of the molecular methods in the diagnosis of gastrointestinal infectious diseases. *Int J Microbiol.* 2020. DOI:10.1155/2020/813572
16. An in-house-anti-hepatitis A virus (HAV)-specific immunoglobulin M capture enzyme-linked immunosorbent assay: evaluation and application to an HAV outbreak. Kiyohara T, Ouchi Y, Hasegawa Y, Sato T, Yoneyama T, Ishii K, Ito T, Wakita T. *J Med Virol*. 2009 Sep;81(9):1513-6. doi: 10.1002/jmv.21578.