

Diagnostisch dilemma: wel of geen virale moleculaire diagnostiek bij kinderen met diarree?

Diagnostic dilemma: to perform viral molecular diagnostics in children presenting with diarrhea, or not?

M.S. Corcoran¹, M.E. Ariens², dr. I.H.M. van Loo³, dr. G.Th.J. van Well⁴

SAMENVATTING

Diarree is een veelvoorkomende klacht bij kinderen. Vaak is dit het gevolg van een virale gastro-enteritis. Het inzetten van virale moleculaire diagnostiek bij kinderen met diarree wordt afgeraden, aangezien de ziekte vaak een mild beloop heeft en zelflimiterend is. Toch kunnen zich in de praktijk belangrijke redenen voordoen, met betrekking tot behandeling of hygiëne-maatregelen, om wél te testen. Moleculaire technieken, zoals 'real-time polymerase chain reaction' worden steeds vaker gebruikt voor virale diagnostiek, gezien de toegenomen sensitiviteit ten opzichte van conven-

tionele technieken. Studies wijzen uit dat dit echter ook leidt tot detectie van virussen in feces van asymptomatische kinderen en detectie van meerdere virussen wat interpretatie bij zieke kinderen bemoeilijkt. Indien er gekozen wordt voor virale diagnostiek, dient er rekening gehouden te worden met het feit dat een positieve uitslag van de 'real-time polymerase chain reaction' niet altijd correleert met de etiologie van de ziekte. Wij stellen voor dat de Cycle threshold waarde dan kan helpen bij de klinische interpretatie van de uitslag.

(TIJDSCHR INFECT 2017;12(4):118-22)

SUMMARY

Diarrhea is common in children and mostly caused by a viral gastroenteritis. The use of viral molecular techniques in children presenting with diarrhea is not advised, since the disease is often mild and self-limiting. However, in daily practice there can be important reasons, including therapeutic options and hygiene measures, to perform diagnostics. Because of increased sensitivity, molecular techniques e.g. real-

time-polymerase chain reaction have replaced conventional methods. However, studies show that this increased sensitivity also results in detection of viruses in feces of asymptomatic children and detection of multiple viruses which hinders interpretation in clinically ill cases. A positive real-time polymerase chain reaction result does not always correlate with the etiology of the diarrhea. We suggest that the Cycle threshold value can help to interpret the clinical relevance.

INLEIDING

Diarree bij kinderen is een veel voorkomend probleem in de dagelijkse praktijk van huisartsen en kinderartsen. Het wordt meestal veroorzaakt door een virus. De ziekte heeft vaak een

mild beloop en is zelflimiterend. Diagnostiek vindt steeds vaker plaats door middel van moleculaire technieken als 'real time polymerase chain reaction' (rt-PCR), in plaats van antigeentesten of virale kweken. Indicaties voor het inzetten

¹kinderarts i.o., afdeling Kindergeneeskunde, Maastricht UMC+, Maastricht ²coassistent, afdeling Kindergeneeskunde, Maastricht UMC+, Maastricht ³arts-microbioloog, afdeling Medische Microbiologie, Maastricht UMC+, Maastricht ⁴kinderarts-infectioloog/immunoloog, afdeling Kindergeneeskunde, Maastricht UMC+, Maastricht & School for Nutrition and Translational Research in Metabolism (NUTRIM), Universiteit Maastricht, Maastricht

Correspondentie richten aan: mw. M.S. Corcoran, kinderarts i.o., afdeling Kindergeneeskunde, Maastricht Universitair Medisch Centrum, P. Debyelaan 25, 6229 HX Maastricht, tel. nr.: 043 3872920, e-mailadres: moniek_corcoran@hotmail.com.

Belangenconflict/financiële ondersteuning: geen gemeld.

Trefwoorden: Cycle threshold-waarde, diagnostiek, diarree, real-time polymerase chain reaction, virale gastro-enteritis.

Keywords: Cycle threshold value, diagnostics, diarrhea, real time polymerase chain reaction, viral gastroenteritis.

van virale diagnostiek zijn niet duidelijk gedefinieerd en interpretatie van de resultaten in de praktijk blijft complex. Bij het inzetten van virale diagnostiek bij kinderen met diarree doet zich een diagnostisch dilemma voor, dat aan de hand van een aantal fictieve, maar herkenbare casus, verder uiteen gezet wordt.

CASUS A

De moeder van een tien maanden oude jongen bezoekt de huisarts omdat haar zoon sinds een dag braakt en zeer frequent diarree heeft. Hij heeft een blanco voorgeschiedenis en moeder vertelt dat er gezinsleden zijn met dezelfde klachten. De huisarts beoordeelt de jongen en constateert een temperatuur van 38,1 graden Celsius met een tachycardie van 130/min en diepliggende ogen. De jongen is normotoon en niet suf, maar drinken lukt niet. Omdat de huisarts vermoedt dat de jongen gedehydrateerd is en orale rehydratie lastig zal zijn in verband met veelvuldig braken, verwijst hij hem naar de kinderarts. De kinderarts ziet de jongen op de SEH. Bij navraag aan moeder heeft haar zoon vandaag ook minder volle plasluiers. Er is geen recent gewicht bekend. Het vermoeden van een dehydratie wordt door de kinderarts klinisch bevestigd en besloten wordt tot opname voor rehydratie met ORS per neusmaagsonde.

Zou u op dit moment diagnostiek naar virale verwekkers in de feces aanvragen?

De jongen knapt klinisch vlot op na rehydratie en wordt de volgende dag naar huis ontslagen. De bij opname afgenomen feceskweek toont een rotavirus met een Cycle threshold (Ct-)waarde van 35.

CASUS B

De ouders van een zes weken oud meisje gaan naar de huisarts omdat hun dochter reeds twee dagen vijf maal per dag waterdunne ontlasting heeft. Ze drinkt goed en braakt niet. Bij beoordeling ziet de huisarts geen tekenen van dehydratie, wel meet hij een temperatuur van 38,8 graden Celsius. Omwille van haar leeftijd en de koorts besluit de huisarts haar te verwijzen naar de kinderarts. De kinderarts beoordeelt op de SEH een niet acuut ziek meisje zonder tekenen van dehydratie. Bloedonderzoek toont een CRP van 16 mg/L (<10 mg/L) en leukocyten van $12 \times 10^9/L$ ($3-12 \times 10^9/L$) zonder linksverschuiving. Een schoon urinesediment sluit een urineweginfectie uit. Er wordt besloten tot opname op de kinderafdeling om het klinisch beloop kritisch te evalueren. Ter preventie van dehydratie bij de frequente waterdunne ontlasting wordt ter compensatie van de verliezen gestart met orale toediening van ORS.

Zou u op dit moment diagnostiek naar virale verwekkers in de feces aanvragen?

Het beloop op de kinderafdeling toont aanhoudende diarree waarbij zij ook gaat braken, niet meer wil drinken en minder gaat plassen. De volgende dag wordt met het beeld van een milde dehydratie, met diepliggende ogen en afgenomen diurese, overgegaan op toediening van ORS per neusmaagsonde.

Als u dat nog niet had gedaan, zou u op dit moment diagnostiek naar virale verwekkers in de feces aanvragen?

Gedurende de volgende dagen neemt de diarree af en gaat de jonge zuigeling steeds beter zelf drinken waarop ze in goede conditie naar huis ontslagen kan worden. Vanwege het beloop werd virusdiagnostiek op de feces verricht die een adenovirus detecteerde met een Ct-waarde van 24.

CASUS C

De moeder van een zes maanden oude jongen, die prematuur geboren is, belt met de kinderarts waar hij onder behandeling is. Hij is bekend met een short bowel syndroom, ten gevolge van een necrotiserende enterocolitis (NEC) waarvoor chirurgische resectie van een deel van de darm plaatsgevonden heeft. Hij is deels afhankelijk van parenterale voeding en krijgt dit over een centraal veneuze lijn. Moeder is bezorgd omdat hij plots hoge koorts heeft gekregen met waterdunne diarree. De kinderarts beoordeelt de jongen en ziet een hangerige jongen zonder tekenen van dehydratie, meet een temperatuur van 39,1 graden Celsius en vindt geen focus voor de koorts bij lichamelijk onderzoek. Aanvullende diagnostiek toont een CRP van 26mg/L (< 10 mg/L) met een leukocytose van $16 \times 10^9/L$ ($3-12 \times 10^9/L$). De jongen wordt opgenomen en er wordt na afname van een bloedkweek, gestart met intraveneuze antibiotica om een eventuele lijn-infectie te behandelen.

Zou u op dit moment diagnostiek naar virale verwekkers in de feces aanvragen?

De volgende dag heeft hij geen koorts meer, de diarree houdt echter wel aan. Hij ontwikkelt geen andere ziekteverschijnselen. Het CRP is doorgestegen naar 32 mg/L. In de bloedkweek groeit vooralsnog niets.

Zou u nu diagnostiek naar virale verwekkers in de feces aanvragen?

Na 72 uur antibiotische behandeling blijft de bloedkweek negatief en heeft de zuigeling geen koorts meer. Ook de diarree is verminderd.

Als u nu geen feceskweek had ingezet, zou u nu de antibiotica staken?

Diagnostiek op de feces werd in dit geval bij opname ingezet en toonde een rotavirus met een Ct-waarde van 21.

Zou u nu na 72 uur bij een negatieve bloedkweek de antibiotica staken?

Omwille van deze uitslag en het klinisch beloop werd de werkdiagnose virale gastro-enteritis gehanteerd en de differentiaaldiagnose lijninfectie door ons verworpen. De antibiotica werden gestaakt en de volgende dag kon hij in goede conditie ontslagen worden.

CASUS D

Een meisje van negen maanden ligt na een lang poliklinisch traject sinds vier dagen opgenomen op de kinderafdeling ter observatie. Zij heeft voedingsproblemen die vermoedelijk berusten op problemen in de ouder-kind interactie. Op de vierde dag van de opname begint ze te braken en later die dag ontwikkelt ze waterdunne diarree. Er liggen op dat moment drie andere kinderen op de kinderafdeling met het klinisch beeld van een gastro-enteritis.

Zou u op dit moment diagnostiek naar virale verwekkers in de feces aanvragen?

Het meisje krijgt ORS oraal toegediend, aangezien zij tekenen van milde dehydratie vertoont met een versnelde pols. Hierna stopt het braken en herstelt zij van de diarree in de loop van enkele dagen.

Vanwege een uitbraak van norovirus op de afdeling werd in dit geval reeds bij de eerste tekenen van gastro-enteritis virale diagnostiek van feces ingezet welke een norovirus met Ct-waarde van 22 toonde.

BESPREKING

Bij het lezen van bovenstaande casus zal iedereen vanuit zijn eigen achtergrond, kennis en ervaring ideeën hebben over het inzetten van diagnostiek bij virale gastro-enteritis. Er zullen dus ook verschillende antwoorden zijn op de steeds terugkerende vraag **“zou u op dit moment diagnostiek naar virale verwekkers in de feces aanvragen?”**.

Acute gastro-enteritis kan veroorzaakt worden door een breed spectrum van parasitaire, bacteriële en virale verwekkers.

Meestal wordt een gastro-enteritis bij kinderen veroorzaakt door virussen.¹ Een typische virale gastro-enteritis presenteert zich met verschijnselen van misselijkheid, braken en diarree. Dit gaat vaak gepaard met temperatuursverhoging of koorts. Hierbij zijn rotavirus, norovirus en adenovirus de meest voorkomende verwekkers.^{1,2} Andere virussen die in toenemende mate beschreven worden als oorzaak van gastro-enteritis bij kinderen zijn sapovirus, astrovirus, enterovirus en parechovirus.^{3,4}

De NHG-standaard ‘Acute diarree’ verschaft een advies voor het inzetten van fecesonderzoek in de eerste lijn, waaronder bij patiënten met aanhoudende of hoge koorts, frequente waterdunne diarree, of bloed bij de ontlasting, immuun gecompromitteerde patiënten, patiënten die een verhoogd besmettingsgevaar voor anderen vormen en patiënten met klachten bestaande langer dan tien dagen.⁵ Dit is van toepassing op alle leeftijden. Voor virale verwekkers van diarree geldt over het algemeen geen meldplicht voor artsen. Ten aanzien van een norovirusinfectie dient eventueel overleg gepleegd te worden met de GGD over het bezoek van kinderdagverblijf of peuterspeelzaal. In het kader van de publieke gezondheid hebben deze instellingen zelf wel een meldplicht indien er binnen één groep meerdere kinderen een gastro-enteritis ontwikkelen.

De indicaties voor het inzetten van diagnostiek voor virale gastro-enteritis in de tweede lijn zijn minder duidelijk vormgegeven in een richtlijn. Uit een enquête uitgevoerd onder 132 kinderartsen en A(N)IOS Kindergeneeskunde in tweede- en derdelijnscentra in Zuid-Oost Nederland, blijkt dat 60% van de ondervraagden zelden (<10%) diagnostiek naar een virale verwekker aanvraagt bij kinderen met gastro-enteritis. De belangrijkste redenen om wél diagnostiek te verrichten zijn het voorkómen van andere of verdere diagnostiek naar de etiologie van de klachten (50%), het kunnen nemen van isolatiemaatregelen op de afdeling (49%), inzet bij kinderen die door hun leeftijd of voorgeschiedenis in een kwetsbare groep vallen (41%), inzet bij een onverwacht klinisch beloop (32%) of diagnostiek bij kinderen met een ernstige klinische presentatie (14%). Hoewel er dus niet vaak diagnostiek bij kinderen met een gastro-enteritis wordt aangevraagd, zijn er soms belangrijke redenen om wél te testen. Uit deze enquête blijkt tevens dat de indicaties die in de eerstelijns richtlijn worden gesteld, grotendeels overeenkomen met praktische inzet van diagnostiek in de tweede lijn. Inzet van diagnostiek is zinvol wanneer het klinische consequenties heeft voor de patiënt of de publieke gezondheid.

Het afgelopen decennium vond een grote verschuiving plaats van conventionele diagnostiek in de vorm van virale kweken en antigeendetectie naar moleculaire diagnostiek, vaak in de vorm van rt-PCR. De hoge sensitiviteit van rt-PCR

TABEL 1. Uitslagen casus met interpretatie

Casus	Achtergrond	Uitslag	Interpretatie
A; jongen 10 maanden	blanco voorgeschiedenis, gastro-enteritis met milde dehydratie	rotavirus positief Ct-waarde 35	Relatief hoge Ct-waarde dus relatie met causaliteit onduidelijk; niet beleidsveranderend. Bij het snelle klinische herstel werd geen verdere diagnostiek ingezet. Bij een geprotraheerd beloop zou dit wel overwogen kunnen worden.
B; meisje 6 weken	Koorts <3 maanden met diarree, na opname alsnog geprotraheerd beloop waarvoor ORS per sonde	Adenovirus positief Ct-waarde 24	Hoogst waarschijnlijk verwekker van gastro-enteritis; niet beleidsveranderend, maar wel verklarend voor de koorts bij deze zeer jonge zuigeling
C; jongen 6 maanden, ex-prematuur 28 weken	NEC doorgemaakt, CVL voor TPV, diarree en hoge koorts, CRP 26-32 mg/L; antibiotica bij werkdiagnose lijninfectie, bloedkweek negatief	rotavirus positief Ct-waarde 21	Lage Ct-waarde dus meest waarschijnlijk rotavirus gastro-enteritis. Tezamen met negatieve bloedkweek voldoende om antibiotica te kunnen staken
D; meisje 9 maanden	nosocomiale gastro-enteritis	norovirus positief Ct-waarde 22	Norovirus gastro-enteritis, geen beleidsverandering voor meisje. Wel speciale handdesinfectie maatregelen op de kinderafdeling

Ct-waarde = Cycle threshold waarde, NEC = necrotiserende enterocolitis, CVL = centraal veneuze lijn, TPV = totale parentale voeding.

om virale verwekkers bij kinderen met diarree te detecteren, leidt tot een verdubbeling van detectie van virussen ten opzichte van de oudere methodes.^{6,7} Deze techniek is daarnaast in staat tot snelle detectie van niet-kweekbare virussen zoals norovirus, sapovirus en astrovirus en de uitslag is binnen een dag bekend. Daarnaast levert detectie met rt-PCR direct het virustype, wat inzicht geeft in het epidemiologisch profiel van lokale en seizoensgebonden verspreiding van de bepaalde typen virussen. De rt-PCR geeft een semi-kwantitatieve uitslag als afspiegeling van de hoeveelheid viruspartikels in een monster. Deze semi-kwantitatieve uitslag wordt uitgedrukt in het aantal cycli die nodig zijn om het virus te detecteren, de Cycle threshold (Ct-)waarde. Hoe lager de Ct-waarde, des te meer viruspartikels er aanwezig zijn in het monster en andersom. Dit klinkt veelbelovend; de praktijk kent echter ook een groot nadeel: de hoge sensitiviteit leidt tot detectie van virussen bij asymptomatische kinderen, waarbij detectiecijfers tot 47,5% beschreven zijn.^{4,7,8} Tevens worden bij 18% van de patiënten meerdere virussen gedetecteerd.⁹ Dit maakt de toepasbaarheid en interpretatie

voor de praktijk complex. Onderscheid tussen asymptomatische uitscheiding of dragerschap en daadwerkelijke causaliteit van de gastro-enteritis episode is daarom moeilijk. Om de klinische interpretatie van de uitslagen te verbeteren, stellen wij voor om in de acute fase naar de Ct-waarde te kijken. In een case-control studie stelden wij vast dat er voor rotavirus en adenovirus een relatie bestaat tussen de hoogte van de Ct-waarde en de ernst van de klachten.⁹ Phillips et al. stelden eerder al een Ct-waarde van 28 voor als afkapwaarde voor het rotavirus om het van dragerschap te kunnen onderscheiden.¹⁰ Wij valideerden deze waarde in een case-control studie.⁹ Phillips et al. stelden tevens een Ct-afkapwaarde van 30 voor norovirus vast.¹¹ Bovenstaande afkapwaardes zijn enkel gevalideerd voor die specifieke rt-PCR-tests in de onderzochte laboratoria en dus niet direct toepasbaar in de dagelijkse praktijk. Relevante Ct-afkapwaardes verschillen per verwekker en goede klinische algoritmes hiervoor dienen nog ontwikkeld te worden. Desondanks is het waardevol te weten dat de Ct-waarde in het algemeen omgekeerd gecorreleerd is aan de ernst van de klachten. Dit biedt mogelijkheden

AANWIJZINGEN VOOR DE PRAKTIJK

- 1 Gastro-enteritis bij kinderen komt veel voor en wordt vaak veroorzaakt door virussen.**
- 2 Diagnostiek naar de verwekker leidt vaak niet tot verandering van beleid; soms kan het aantonen van een verwekker echter wel van doorslaggevende waarde zijn voor de patiënt of zijn omgeving.**
- 3 Een positieve rt-PCR-uitslag van de feces correleert niet altijd met de etiologische verwekker van de gastro-enteritis.**
- 4 De Cycle threshold-waarde kan helpen bij de klinische interpretatie van de uitslag.**

om de uitslagen in de praktijk beter te interpreteren. Na het lezen van de bespreking, zullen de uitslagen van bovenstaande casusbeschrijvingen mogelijk anders geïnterpreteerd worden. Diagnostiek naar virale verwekkers toonde immers bij ieder kind een virus, dat vermoedelijk als oorzaak van het klinisch beeld geïnterpreteerd kon worden. In *Tabel 1* zijn de vier casus kort herhaald, nu echter met de interpretatie van de verrichte moleculaire diagnostiek op grond van de Ct-waarde zoals voorgesteld in de bespreking. Met name casus A toont aan dat het doen van diagnostiek bij gastro-enteritis niet altijd leidt tot een eenduidig antwoord. Hoewel je natuurlijk de discussie kunt voeren: als casus B en C een hogere Ct-waarde hadden gehad, wat dan? Hiermee willen we duidelijk maken dat interpretatie van de uitslag, ook al heb je een Ct-waarde, niet eenvoudig is. Om interpretatie te verbeteren dienen per virus klinische algoritmen met afkappingen ontwikkeld te worden.

CONCLUSIE

Het wordt afgeraden om bij ieder kind met het beeld van een gastro-enteritis diagnostiek te verrichten naar een virale verwekker. Vaak is het ziektebeloop mild en zal het inzetten van diagnostiek geen klinische consequenties hebben. Er doen zich in de praktijk echter situaties voor, waarbij het vinden van een oorzakelijk agens wel kan leiden tot klinische consequenties voor de patiënt en diens omgeving, of waarbij diagnostiek wenselijk is in het kader van de publieke gezondheid. Indien diagnostiek wordt ingezet, dient men zich bewust te zijn van eventuele beperkingen hiervan, zoals het feit dat een positieve rt-PCR uitslag van de feces niet altijd betekent dat de etiologische verwekker van de diarree gevonden is. Het interpreteren van de Ct-waarde kan dan helpen bij het klinisch interpreteren van de uitslag.

REFERENTIES

1. De Wit MA, Koopmans MP, Kortbeek LM, et al. Etiology of gastroenteritis in sentinel general practices in the Netherlands. *Clin Infect Dis* 2001;33(3):280-8.
2. Iturriza-Gomara M, Simpson R, Perault AM, et al. Structured surveillance of infantile gastroenteritis in East Anglia, UK: incidence of infection with common viral gastroenteric pathogens. *Epidemiol Infect* 2008;136(1):23-33.
3. De Wit MA, Koopmans MP, Kortbeek LM, et al. Sensor, a population-based cohort study on gastroenteritis in the Netherlands: incidence and etiology. *Am J Epidemiol* 2001;154(7):666-74.
4. Amar CF, East CL, Gray J, et al. Detection by PCR of eight groups of enteric pathogens in 4,627 faecal samples: re-examination of the English case-control Infectious Intestinal Disease Study (1993-1996). *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2007;26(5):311-23.
5. Belo JN, Bos ML, Brühl PhC, et al. NHG-Standaard Acute diarree. *Huisarts & Wetenschap*. 2014;57(9):462-71.
6. Wolfs PF, Bruggeman CA, Van Well GT, et al. Replacing traditional diagnostics of fecal viral pathogens by a comprehensive panel of real-time PCRs. *J Clin Microbiol* 2011;49(5):1926-31.
7. Van Maarseveen NM, Wessels E, De Brouwer CS, et al. Diagnosis of viral gastroenteritis by simultaneous detection of Adenovirus group F, Astrovirus, Rotavirus group A, Norovirus genogroups I and II, and Sapovirus in two internally controlled multiplex real-time PCR assays. *J Clin Virol* 2010;49(3):205-10.
8. Corcoran MS, Van Well GT, Van Loo IH. Diagnosis of viral gastroenteritis in children: interpretation of real-time PCR results and relation to clinical symptoms. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2014;33(10):1663-73.
9. Corcoran MS, Van Loo IH, Wolfs PF, et al. Interpretation of real-time PCR diagnosing fecal viruses in children: a prospective case-control study. *The Pediatric infectious disease journal*. 2013;32(12):1402-3.
10. Phillips G, Lopman B, Tam CC, et al. Diagnosing rotavirus A associated IID: Using ELISA to identify a cut-off for real time RT-PCR. *J Clin Virol* 2009;44(3):242-5.
11. Phillips G, Lopman B, Tam CC, et al. Diagnosing norovirus-associated infectious intestinal disease using viral load. *BMC Infect Dis* 2009;9:63.

ONTVANGEN 10 JANUARI 2017, GEACCEPTEERD 27 MAART 2017.