
Molekylär diagnostik av diarrésjukdomar

SAKARI JOKIRANTA

Diarrésjukdomar är vanliga besvär hos både barn och vuxna. En stor del av dessa sjukdomar orsakas av en mikrob. Vid diarréer där smittan överförts i Finland är det oftast fråga om virus, medan bakterier är vanligare orsaker till diarréer som överförts på resor. Av parasiterna är det bara protozoerna som i betydande mån orsakar diarré. Sjukdomen börjar då oftast mer smygande än akut och protozoer ger oftare utdragna magbesvär än akut diarré. Den mikrobiologiska diagnostiken av diarrésjukdomar har genomgått en omvälvning de senaste åren. Tidigare grundade sig diagnostiken för bakteriernas del nästan uteslutande på odlingsmetoder, för protozoernas del på mikroskopi av fecesprover som behandlats på många olika sätt och för virus rentav på elektronmikroskopi. Nu kan alla tre patogengrupper hittas i fecesprover med metoder som grundar sig på påvisning av nukleinsyror och som upptäcker flera mikrober samtidigt. Detta har gjort den praktiska diagnostiken lättare och snabbare och det har också ökat sannolikheten att hitta vissa patogena mikrober såsom enterohemorragisk *E. coli*, *Dientamoeba* eller *Cryptosporidium*. Bland annat av dessa orsaker är det viktigt att den praktiserande läkaren bekantar sig med den nya diagnostiken av diarrésjukdomar. De molekylära metoderna har dock inte helt undanträngt de gamla analyserna av fecesprover, eftersom resistensbestämning av bakterier kräver traditionell odling av proverna i petriskålar. Dessa odlingar kan nu inriktas enbart på de prover där diarrébakterier har påvisats med DNA- eller PCR-metoder. F-BaktVIP kan således redan nu anses vara den primära undersökningen vid diagnostik av bakteriell diarré. Oberoende av i vilken riktning den diagnostiska mikrobiologin utvecklas i framtiden, kommer nukleinsyrabaserade påvisningsmetoder i fortsättningen att vara diagnostikens huvudfråga, måhända i form av kombinationsundersökningar som kan upptäcka bakterier, virus och parasiter.

Diarré kan ha många orsaker. Enbart utgående från sjukdomsbilden kan orsaken till diarré inte exakt fastställas, också om det vanligen ligger en infektion bakom akut diarré medan orsaken till långsamt insättande diarré eller kroniska magbesvär ofta är icke-infektiös. Sådana symtom kan orsakas av exempelvis

celiaki, inflammatoriska tarmsjukdomar, funktionella magbesvär, malabsorption, irritabel tarm och annat. Eftersom magbesvär är en mycket vanlig orsak för att söka läkarhjälp är det viktigt att identifiera de patienter där symtomen beror på en lättbehandlad infektion, eller där upptäckten av en infektion gör att man kan undvika onödiga och ofta dyra fortsatta undersökningar med endoskopier och bildundersökningar. Därför är infektionsdiagnostik vanligen den första åtgärden vid utredning av diarré- och magbesvärspatienter, både vid akut diarré och vid utdragna magbesvär.

SKRIBENTEN

Sakari Jokiranta, MD, är docent i medicinsk mikrobiologi och immunologi och specialitetsläkare i klinisk mikrobiologi. Han har länge varit verksam som lärare i klinisk mikrobiologi vid Helsingfors universitet och verkar nu som ledande överläkare för Synlab Finland och Förenade Medix Laboratorier.

Bakterier som orsakar diarré

De bakterier som oftast orsakar icke-vårdrelaterad diarré är toxinproducerande *E. coli*-stammar, *Campylobacter jejuni* och *C. coli*, *Salmonella*-arter, *Shigella dysenteriae* och

Yersinia enterocolitica (1). En i finländska förhållanden sällsynt men internationellt ytterst viktig diarrébakterie är *Vibrio cholerae* som orsakar kolera. De *E. coli*-stammar som kan orsaka diarré är enterotoxigen *E. coli* (ETEC), enteroaggregativ *E. coli* (EAEC), enteropatogen *E. coli* (EPEC), enterohemoragisk *E. coli* (EHEC) och enteroinvasiv *E. coli* (EIEC)(2). Av dessa *E. coli*-stammar ger ETEC, EHEC och EIEC vanligen de mest allvarliga sjukdomsbilderna, och smittan är inte lika ofta symtomfri som vid EAEC och EPEC.

En del av de bakterier som orsakar diarré är endemiska i Finland, och av dem är *Campylobacter*, *Yersinia* och *Salmonella*-arterna av betydelse också för livsmedelsindustrin. Fall av shigellasmitta eller särskilt kolerasmitta är inte kända från Finland, men *E. coli*-bakterier som orsakar diarré kan emellertid cirkulera bland befolkningen också här. Vanligen är diarrégivande *E. coli*-stammar, liksom de flesta fall av *Campylobacter*- och *Salmonella*-smitta, dock importerade från utlandet (3). På 2000-talet har antalet fynd av *Campylobacter* stadigt ökat i långsam takt, medan *Salmonella*-fynden småningom har minskat så att vi under de senaste åren har haft ungefär tre gånger så många *Campylobacter*-fynd som *Salmonella*-fynd (Figur 1 A).

Vid vårdrelaterade diarréfall är det ofta fråga om att antibiotikabehandlingar förändrar tarmfloran så att en anaerob bakterieart, *Clostridium difficile*, kommer åt att föröka sig och genom det toxin som den producerar orsaka en infektion som kan ha lindriga eller svåra symtom och till och med leda till pseudomembranös kolit (4). Denna infektion är inte alls sällsynt enligt Registret för smittsamma sjukdomar. Av diarrébakterier har det vanligaste fyndet varit *C. difficile* sedan det 2008 blev obligatoriskt att anmäla denna bakterie som smittsam sjukdom (Figur 1 A).

Virus som orsakar diarré

Av virus som orsakar diarré är de vanligaste norovirus, sapovirus, astrovirus, rotavirus och vissa typer av adenovirus (5). Förekomsten av rotavirus har snabbt minskat sedan vaccinet togs med i i det allmänna vaccinationsprogrammet för barn i september 2009 (Figur 1 B). Av virus som orsakar diarré för Institutet för hälsa och välfärd statistik över noro-, rota- och enterovirus. Att fynden av norovirus har ökat sedan 2007 är troligen en följd av att molekylär diagnostik har blivit vanligare. Norovirus upptäcktes 2017 i väsentligt större

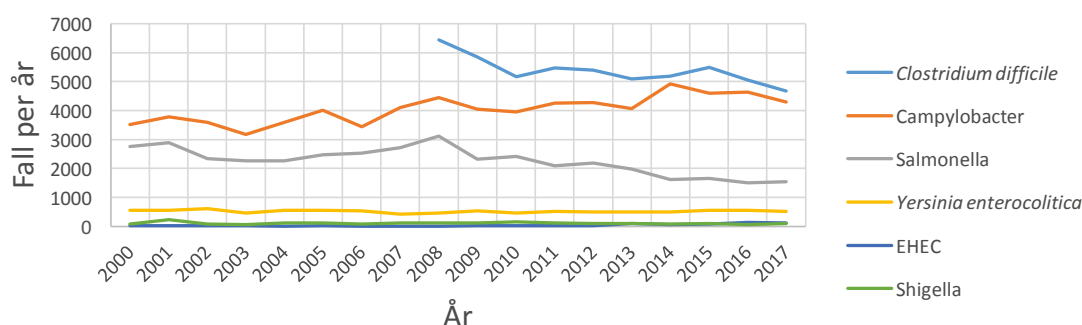
omfattning än de föregående åren i många sjukvårdsdistrikt runtom i landet (Figur 1 B). Största delen av diarrévirusmittorna fås i Finland, men i viss mån påträffas virusdiarré också hos resenärer (6).

Protozoer som orsakar diarré

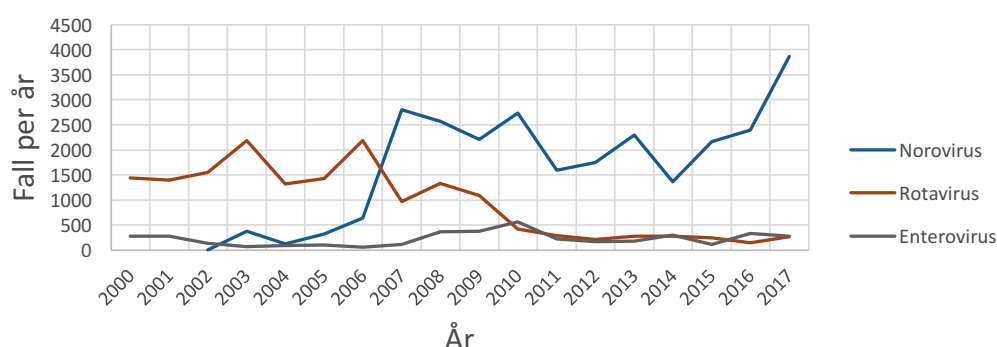
Den diarréorsakande protozo som globalt sett är viktigast är *Entamoeba histolytica*, eftersom infektioner orsakade av den årligen leder till omkring 70 000 människors död. Andra diarréorsakande protozoer är *Giardia lamblia*, *Cryptosporidium*-arter, *Cyclospora*, *Cycloisopora*, *Balantidium coli* och *Dientamoeba fragilis*. De ger inte livshotande infektioner hos i övrigt friska personer, men åtminstone *Cryptosporidium* kan ge allvarlig och till och med dödlig sjukdom hos patienter med grav immunbrist. Den kliniskt mest betydande protozosjukdomen hos i övrigt friska människor är akut eller subakut diarré och, om infektionen blir kronisk, utdragna magbesvär och avmagring samt i fattiga länder störd tillväxt och utveckling hos barn om infektionerna inte behandlas (7).

De vanligaste diarréorsakande protozoerna i Finland är *Dientamoeba fragilis* och *Giardia* (Figur 1 C och 2 B). *Dientamoeba* har säkerställts som orsak till diarré hos vuxna först under det senaste decenniet. Hos barn har det åtminstone ännu inte kunnat påvisas att den är patogen. Fynden av *Dientamoeba* i Finland är för närvarande åtminstone på två diagnostiska laboratorier fler än fynden av *Giardia*, men det finns ingen tillförlitlig nationell statistisk om antalet infektioner. I Finland diagnostiseras årligen cirka 300–400 fall av *Giardia*, och i statistiken kan en ökning av antalet fynd ses som följd av den vattenburna epidemin i Birkaland 2008 (Figur 1 C). Största delen av giardiafynden kommer från invandrare (särskilt barn) och resenärer (8). *Cryptosporidium* är däremot endemisk i Finland och epidemierna de senaste åren (till exempel 2012 och 2016) har varit följder av inhemsk vatten- eller matburen smitta (9). Det faktum att *Cryptosporidium* är endemisk beror antagligen på att den i Finland som i andra västländer är en vanlig orsak till tarminfektioner hos kalvar (10). I statistiken över smittsamma sjukdomar kan en betydande uppgång i antalet *Cryptosporidium*-fynd ses 2017, särskilt inom Vasa sjukvårdsdistrikt, men också inom Syd-Österbottens, Mellersta Österbottens och Norra Österbottens samt Helsingfors och Nylands sjukvårdsdistrikt

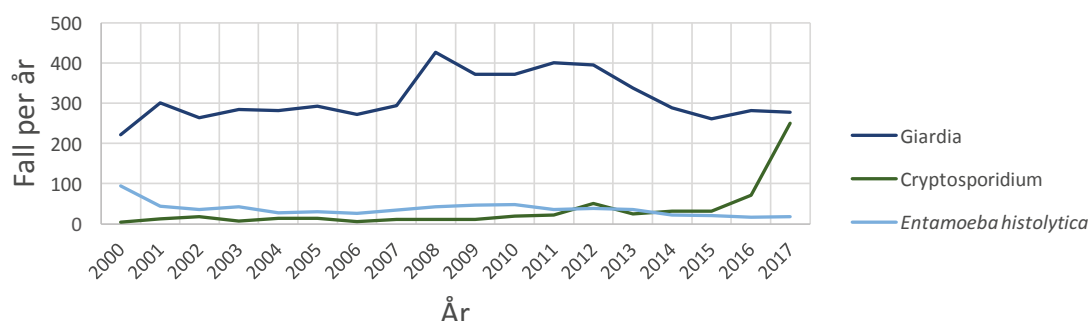
A



B



C



Figur 1. Antal diarréorsakande mikrober som har anmälts till registret för smittsamma sjukdomar årligen under detta årtusende. A. Bland antal diarréorsakande bakterier ses ett stort antal fynd av *Clostridium difficile* efter att bakterien började omfattas av anmälningsskyldigheten för smittsamma sjukdomar 2008, fler fynd av *Campylobacter* och färre fynd av *Salmonella*. B. Av virus som orsakar diarré för Institutet för hälsa och välfärd statistik enbart över noro-, rota- och enterovirus. På y-axeln ses att rotavirus har blivit ovanligare efter 2009 i och med vaccinationerna samt att fynden av norovirus har ökat sedan 2007, mycket tack vare den molekylära diagnostiken. Toppen 2017 för norovirus beror på det ökande antalet fynd från flera sjukvårdsdistrikt. C. För diarréorsakande protozoer ses en ökning i antalet fynd av *Giardia* som följd av den vattenburna epidemin i Birkaland 2008 samt ökat antal *Cryptosporidium* som följd av epidemierna 2012, 2016 och 2017, och 2017 också på grund av den snabbt ökande användningen av PCR-diagnostik. Källa för statistikuppgifter: statistikdatabas från Registret för smittsamma sjukdomar, Institutet för hälsa och välfärd (www.thl.fi).

(Figur 1C). Den ökande förekomsten av *Cryptosporidium* är ofta en följd av en vattenburen epidemi, men ibland är orsaken en epidemi

som uppkommit av att livsmedel tvättats med förorenat vatten eller via direktkontakt med nötkreatur.

Tabell I. Inkubationstider för mikrober som orsakar diarrésjukdomar. Tiderna är riktgivande och grundar sig på en helhetsbild från olika källor och på erfarenheter av kliniskt arbetande läkare.

Tid från exposition till symtomdebut	De vanligaste patogenerna
1–8 h	Matförgiftning (toxinmedierade)
8–12 h	Matförgiftning, <i>Vibrio cholerae</i> , (Salmonella), <i>Clostridium botulinum</i>
12–48 h	Diarréorsakande <i>E. coli</i> , Salmonella, Shigella, Yersinia, Norovirus
48–72 h	Rotavirus, (ETEC, Campylobacter, Shigella)
3–11 dagar	Campylobacter, Adenovirus, Cryptosporidium
7–28 dagar	Giardia, <i>Entamoeba histolytica</i>

Latens från exposition till uppkomst av diarrésymtom

Flera typer av mikrober kan orsaka diarré och andra magbesvär. En del av diarrésjukdomarna börjar snabbt; matförgiftningar orsakade av toxiner i mikroberna så snabbt som inom cirka en timme. Av tarminfektionerna kan vissa virus- och bakterieinfektioner ge symtom rätt snabbt, till exempel kolera orsakad av *Vibrio cholerae* inom 12 timmar efter smittan och diarré orsakad av diarréframkallande *E. coli*-stammar, salmonella, Shigella eller norovirus inom 12–48 timmar (Tabell I) (1,11). En del diarréframkallande infektioner, exempelvis kampylobakter- och protozoinfektioner, ger symtom ofta först med flera dagars och upp till en veckas dröjsmål.

Turistdiarré

Fler än 100 000 finländare insjuknar årligen i turistdiarré. Resedestinationen inverkar väsentligt på risken. Av finländare som reser till exempel till Sydostasien får cirka 80 procent turistdiarré. Beroende på patogenen är inkubationstiden för turistdiarré vanligen 2–7 dygn. Diarrén orsakas vanligen av en bakterie (i 80 procent av fallen), ibland av virus (5–25 procent) och någon gång av protozoer (mindre än 10 procent av fallen) (3). Ibland finns det flera patogener, om smittan kommer av exposition från fecesförorenad mat eller dryck. De vanligaste patogena bakterierna är ETEC, EAEC och EPEC (sammanlagt upp till 60 procent).

Diarréepidemier

Tarminfektionsalstrande mikrober kan utgöra en betydande risk för epidemier. De huvudsakliga orsakerna till detta är att det som

följd av tarminfektionen produceras mycket stora mängder mikrober, som sedan kommer i kontakt med många andra människor genom kontamination av kläder och händer eller via eventuellt kontaminerat avloppsvatten. Dessutom påverkas förmågan att orsaka epidemier av att en del infektionsalstrande bakterier kan föröka sig i livsmedel, och en del av de smittsamma formerna av tarmmikrober (såsom protozoers cystor eller oocystor eller *C. difficile*-sporer) väl tolererar förhållandena i miljön i långa tider (12).

Traditionell diagnostik av diarrépatogener

Diagnostiken av diarrébakterier har sedan början av 1900-talet grundat sig på fecesodlingar. Det centrala i dessa metoder är att de patogena bakterierna anrikas medan tillväxten av icke-patogener förhindras. På så sätt får man ur relativt små mängder avföring fram de bakteriearter som man vill söka. I Finland har den vanligaste fecesodlingen för diarrépatienter varit ett undersökningspaket (F-BaktVi1) där man identifierar de fyra viktigaste bakteriegrupperna som orsakar akut diarré: Salmonella, Campylobacter, Yersinia och Shigella. I vissa laboratorier har man också sökt de sällsynta diarrépatogenerna Aeromonas- och Plesiomonas-arter. Med detta odlingspaket upptäcks inte vare sig den epidemiologiskt viktiga bakterien EHEC eller den i finländska förhållanden sällsynta men globalt viktiga diarrépatogenen *Vibrio cholerae*. Andra brister i odlingspaketet är att där inte ingår vare sig *C. difficile* eller de sedvanliga diarréorsakande *E. coli*-stammarna (ETEC, EAEC, EPEC).

Vid fall av vårdrelaterad diarré har man traditionellt sökt bakterien *C. difficile* med odling. Denna undersökning har ingått i pa-

Tabell II. Jämförelse mellan traditionell och nukleinsyrabaserad diagnostik av bakterier som orsakar icke-vårdrelaterad diarré.

Bakterie	Bakterieodling på feces 1 (F-BaktVi1)	Påvisning av nukleinsyror (F-BaktVIP)
Salmonella	X	X
Shigella	X	X
Yersinia	X	X
Campylobacter	X	X
EAEC (enteroaggregativ <i>E. coli</i>)		X
EHEC (enterohemorragisk <i>E. coli</i>)		X
EIEC (enteroinvasiv <i>E. coli</i>)		X
EPEC (enteropatogen <i>E. coli</i>)		X
ETEC (enterotoxigen <i>E. coli</i>)		X

ketet fecesodling-2, som dock redan för några år sedan ersattes av tester som identifierar toxinproducerande *C. difficile* (13).

Diarrévirus har traditionellt sökts klart mera sällan än bakterier. Den viktigaste orsaken till det är att specifikt kurativ behandling inte finns att tillgå för virusdiarré på samma sätt som för bakteriediarré. En rätt stor mängd prover har dock undersökts, synbarligen mest för att klargöra epidemier, för att upptäcka virus som orsakar allmänsymtom och kanske för att undvika onödiga antibiotikakurer. Eftersom metoder som grundar sig på den traditionella elektronmikroskopin är ytterst omständliga och dyra, har metoder som utgår från påvisande av nukleinsyror införts i denna diagnostik tidigare än i den bakteriologiska eller parasitologiska diagnostiken (14). Parallellt med dem har det utvecklats metoder för påvisande av antigen som lämpar sig för patientnära diagnostik av vissa vanliga diarrévirus.

Den traditionella diagnostiken av tarmparasiter har i huvudsak utgått från mikroskopi av formalinbehandlade fecesprov och i mindre grad från mikroskopi av prover fixerade med polivinylalkohol (PVA)/Ecofix eller tester som påvisar antigener. Testningsalgoritmen är dyr och arbetskrävande, eftersom man inte med en eller ens två metoder kan upptäcka alla betydande tarmprotozoer.

Modern påvisning av nukleinsyror vid diarrédiagnostik

Sedan 2012 har man i Finland i allt högre grad övergått till att använda metoder som grundar sig på påvisning av nukleinsyror vid diagnos-

tik av diarrébakterier (15). Dessa metoder kallas ofta molekylärbiologiska tester eller PCR-tester. I början gjordes testerna parallellt med bakterieodlingar (F-BaktVIP), men för cirka två år sedan övergick man utgående från samlad information till att som screening använda enbart PCR-test och göra en odling bara när PCR-fyndet gav anledning till det.

PCR-metodens mest betydande fördelar jämfört med odlingsmetoder är snabbhet och känslighet samt att diarréorsakande *E. coli*-bakterier upptäcks (Tabell II, Figur 2 A). Resultaten av PCR-tester för diarrébakterier har gett ny information, särskilt om *E. coli*:s andel av bakteriediarréerna både hos personer som återvänder från resor och hos personer som har fått smittan i Finland (16). PCR-metodens huvudsakliga svaghet vad gäller bakteriediarréer är avsaknaden av antibiotikaresistensbestämning. Det innebär att man vid fynd av salmonella, Shigella, Campylobacter och Yersinia måste göra en särskild resistensbestämning med odlingsmetoder, vilket också ingår i undersökningspaketet F-BaktVIP vid positivt PCR-fynd. Den höga sensitiviteten kan också vara en svårighet med PCR-metoden, vilket gör att man inte alltid vet hur man ska förhålla sig till resultatet när patienten behandlas. Ett exempel på detta är hur man ska ställa sig till bakterien EHEC, som upptäcks klart oftare än med den gamla odlingsmetoden, både vid behandling av en enskild patient och ur epidemiologisk smittskyddssynvinkel (Figur 2 A). PCR-metodens sensitivitet visas också av att man hos en del symptomfria patienter kan påvisa en del sådana *E. coli*-typer (närmast EPEC eller EAEC) som

Tabell III. Jämförelse mellan traditionell och nukleinsyrabaserad diagnostik av protozoer.

Protozo	Formalinprov (F-Para-O x3)	Annan traditionell test	Påvisning av nukleinsyror (F-ParaNhO)
<i>Giardia lamblia</i>	Kan påvisas	F-GiCrAg	Kan påvisas
<i>Entamoeba histolytica</i>	Kan påvisas	F-EhistAg	Kan påvisas
		F-AmebVra	
<i>Cryptosporidium</i>	- b	F-CrypVr	Kan påvisas
		F-GiCrAg	
<i>Dientamoeba fragilis</i>	- b	F-AmebVr (EcoFix eller färsk)	Kan påvisasc
Patogen <i>Entamoeba histolytica</i> och icke-patogen <i>E. dispar</i> kan inte särskiljas			
Protozoen kan inte identifieras, men misstanke om infektion kan uppkomma och leda till att ytterligare undersökning rekom- menderas			
Bara en den av de F-ParaNhO- tester som används i Finland upptäcker <i>D. fragilis</i> .			

också kan orsaka diarré. Ett sådant fynd hos en symptomfri patient har synbarligen ingen klinisk betydelse. Också EHEC hittas hos symptomfria personer, men betydligt mer sällan än EPEC och EAEC. Ett sådant fynd kan ha betydelse för att säkerställa att patienten inte längre bär på bakterien och eventuellt för att överväga att undersöka familjemedlemmar, trots att det inte finns regler om detta eller klar vetenskaplig evidens om den eventuella nyttan av fortsatta åtgärder.

Vad gäller virus är påvisning av nukleinsyra en ytterst användbar metod, eftersom nästan alla andra metoder är antingen långsamma eller dyra eller sådana som bara upptäcker ett virus åt gången. Liksom vid bakteriediagnostik kan man för att upptäcka virus använda så kallad multiplexteknik, där samma analys upptäcker flera mikrober. I Finland används ett test som påvisar norovirus GI och GII, sapovirus, astrovirus, rotavirus och adenovirustyperna F40/41 (undersökningskod F-VirNhO). Eftersom patientens sjukdomsbild inte ger mycket fingervisning om vilket virus som står bakom diarrén, är ett test som påvisar många olika virustyper en betydande diagnostisk förbättring (17). Att testet har införts kan vara en orsak till att fynden av norovirus ökade förra året. En annan orsak kan vara att apparater som hittar diarrévirus med

antigenteknik som bordsidetest (MariPOC®) har blivit vanligare.

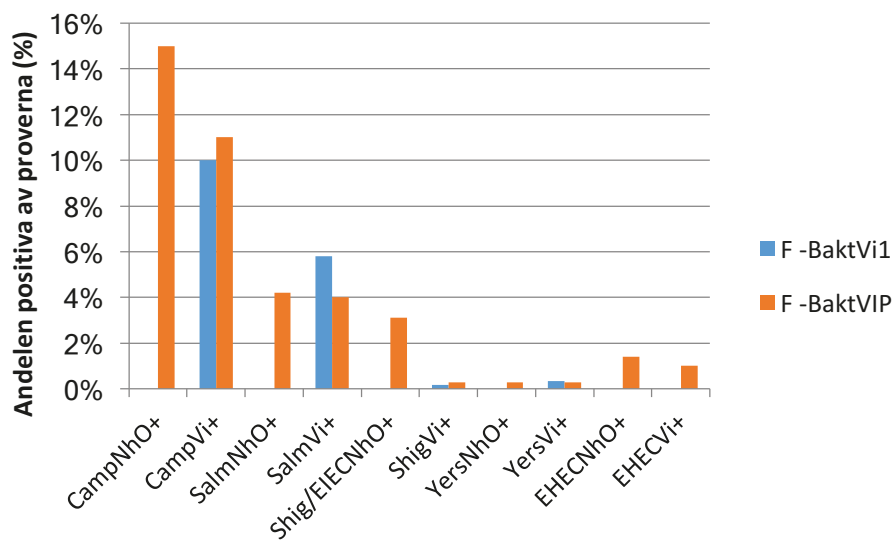
Vad beträffar tarmprotozoerna är påvisning av nukleinsyra en alldeles särskilt betydelsefull nyhet inom diagnostiken (18). Det beror på att den tidigare diagnostiken var så invecklad och besvärlig både ur patientens och ur hälso- och sjukvårdens synvinkel och på att man med PCR-metoden (F-ParaNhO) ur ett enda prov med en känslig metod kan upptäcka samtliga av de fyra mest betydande protozoarter som orsakar diarré och utdragna magbesvär (Tabell III). Sedan metoden infördes har antalet fynd av både *Dientamoeba* och *Cryptosporidium* ökat (Figur 2 B).

Påvisning av nukleinsyra i framtiden

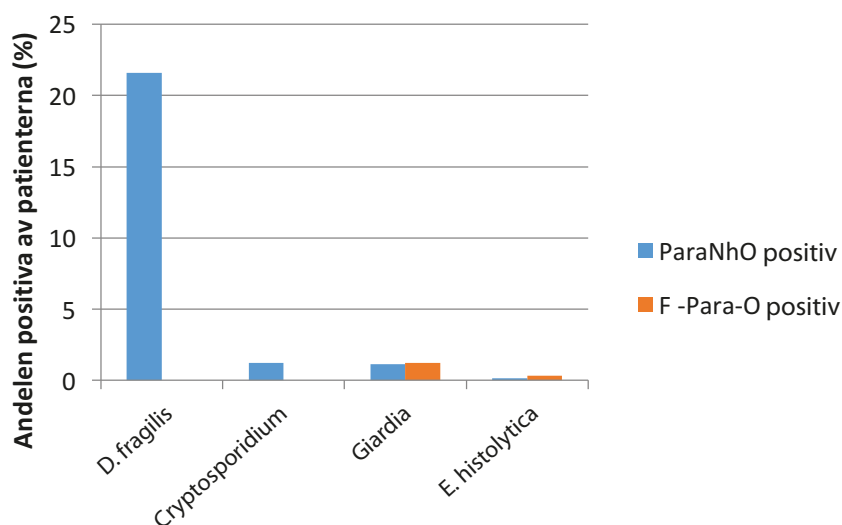
Hittills har bakterier, virus och protozoer setts som skilda diagnostiska grupper i alla diarrétester. Multiplextekniken har dock gjort det möjligt att söka mikrober av olika slag i samma prov (17). Det kan därför hända att det i framtiden erbjuds testpaket till exempel så att ett paket för akut diarré undersöker både diarrébakterier och virus och ett paket för utdragna magbesvär undersöker såväl bakterier och protozoer som maskar.

En annan möjlig framtida utvecklingstrend är att patienterna tar prover mer självständigt,

A



B



Figur 2. Påvisningen av diarréorsakande mikrober har förbättrats i och med övergången till PCR-metoden.

A. Jämförelse mellan antalet bakteriefynd gjorda med bakterieodling på feces (F-BaktVi1) och påvisning av nukleinsyra (F-BaktVIP) i ett öppenvårdsmaterial från Förenade Medix Laboratorier Ab (A. Muotiala/S. Jokiranta, n > 5 000 odlingar och n > 1 000 nukleinsyrabestämningar). De gröna staplarna visar andelen fynd av alla prover med nukleinsyrapåvisning och de blå staplarna med odling. Vid jämförelse bör det noteras att odling av EHEC inte hör till paketet F-BaktVi1. B. Jämförelse mellan antalet fynd av diarréorsakande protozoer med mikroskopi respektive påvisning av nukleinsyra 2017 och 2018 på Förenade Medix Laboratorier Ab. Här ses det mycket större antalet fynd av Dientamoeba med nukleinsyrapåvisning och också en klar ökning av antalet fynd av Cryptosporidium.

dock så att testet utförs i ett centrallaboratorium med pålitliga metoder för att påvisa nukleinsyror. Arrangemanget skulle vara att patienten antingen betalar testpaketet själv eller att en tjänsteleverantör inom hälso- och sjukvården beställer ett provtagningskit hem till patienten. Det senare alternativet kunde

vara behändigt till exempel för behandlingskontroller efter parasitinfektioner; man kunde då undvika onödiga besök för att lämna in prover och höra resultaten.

Oberoende av i vilken riktning den diagnostiska molekylärmikrobiologin går, är det klart att metoder för att påvisa nukleinsyror

i fortsättningen kommer att vara en allt viktigare huvudfåra för diagnostiken av diarrépatogener.

Sakari Jokiranta
sakari.jokiranta@medix.fi

Bindningar: Författaren är ledande överläkare vid Synlab Finland och Förenade Medix Laboratorier samt verkställande direktör vid och ägare av Tammer-Tutkan Maljat Oy. Dessutom har författaren verkat som konsult och medlem i styrgruppen vid flera läkemedelsföretag.

Referenser

1. DuPont HL. Acute infectious diarrhea in immunocompetent adults. *N Engl J Med.* 2014;370:1532–40.
2. Liu J, Platts-Mills JA, Juma J, Kabir F et al. Use of quantitative molecular diagnostic methods to identify causes of diarrhoea in children: a reanalysis of the GEMS case-control study. *Lancet.* 2016;388:1291–01.
3. Lääveri T, Vilkkumäki K, Pakkanen SH, Kirveskari J, Kantele A. A prospective study of travellers' diarrhoea: analysis of pathogen findings by destination in various (sub)tropical regions. *Clin Microbiol Infect.* 2018;24:908.e9–908.e16.
4. Leffler DA, and Lamont JT. *Clostridium difficile* Infection. *N Engl J Med.* 2015;373:287–288.
5. Corcoran MS, van Well GT, and 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;33:1663–73.
6. Lääveri T, Kantele A, Hakanen A, and Mattila L. Turistiripuli, matkailijan yleisin vitsaus. *Duodecim.* 2010;126:403–410.
7. Petri WA, Jr, Mondal D, Peterson KM, Duggal P et al. Association of malnutrition with amebiasis. *Nutr Rev* 2009;67 Suppl 2, S207–215.
8. Rimhanen-Finne R, Sakari Jokiranta T, Virtanen MJ, Kuusi M. *Giardia* and *Cryptosporidium* infection in Finland: a registry-based study of their demographic determinants. *APMIS.* 2011;119:735–740.
9. Aberg R, Sjoman M, Hemminki K, Pirnes A et al. *Cryptosporidium parvum* Caused a Large Outbreak Linked to Frisee Salad in Finland, 2012. *Zoonoses Public Health* 2015;62:618–624.
10. Autio T, Karhukorpi J, Mäkelä M, Meri T et al. Kotopeträinen kryptosporidioosi - alidiagnosoitu tauti Duodecim. 2012;128:1887–90.
11. Thielman NM, Guerrant RL. Clinical practice. Acute infectious diarrhea. *N Engl J Med.* 2004;350:38–47.
12. Efstratiou A, Ongerth JE, Karanis P. Waterborne transmission of protozoan parasites: Review of worldwide outbreaks - An update 2011–2016. *Water Res.* 2017;114:14–22.
13. Arkkila P, Mattila E, Anttila VJ. Ulosteesiirto *Clostridium difficile* -infektion hoitona Duodecim. 2013;129:1671–79.
14. Ahmed SM, Hall AJ, Robinson AE, Verhoef L et al. Global prevalence of norovirus in cases of gastroenteritis: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis.* 2014;14:725–730.
15. Antikainen J, Kantele A, Pakkanen SH, Laaveri T et al. A quantitative polymerase chain reaction assay for rapid detection of 9 pathogens directly from stools of travelers with diarrhea. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2013;11:1300–07 e1303.
16. Rintala A, Munukka E, Weintraub A, Ullberg M et al. Evaluation of a multiplex real-time PCR kit Amplidiag(R) Bacterial GE in the detection of bacterial pathogens from stool samples. *J Microbiol Methods.* 2016;128:61–65.
17. Vila J. New molecular diagnostic tools in traveller's diarrhea. *J Travel Med.* 2017;24:S23–S28.
18. Nurminen N, Juuti R, Oikarinen S, Fan YM, et al. High-throughput multiplex quantitative polymerase chain reaction method for *Giardia lamblia* and *Cryptosporidium* species detection in stool samples. *Am J Trop Med Hyg.* 2015;92:1222–26.

Summary

Microbiological diagnostics of diarrhea

Acute infectious diarrhea is usually caused by bacteria or viruses, whereas prolonged symptoms are more often caused by protozoan parasites. Microbiological diagnostics is an essential part of the management of acute and chronic diarrhea cases, independent of the possible travel history of the patient. Traditionally, the diagnostics of intestinal bacteria has been based on culture methods, whereas detection of protozoa has been based on microscopy. Nucleic-acid-based multiplex tests have changed detection of diarrhea-associated bacteria, viruses, and protozoa. This has influenced patient management by simplification of diagnostic procedures and improved detection of microbes that have, earlier, required special diagnostics.