

Euroopa antimikroobse tundlikkuse testimise komitee ja antimikroobse tundlikkuse määramise standardiseerimise lugu

**Paul Naaber
Marina Ivanova
Anastasia Bilozor
Marika Jürna-Ellam
Maria Viiklepp**

Euroopa antimikroobse tundlikkuse testimise komitee (EUCAST – European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) kursuse töögrupp

2022. a septembris toimus Tallinnas rahvusvaheline ESCMID-i (European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases) kursus, mis käsitles antimikroobse tundlikkuse testimist vastavalt EUCAST-i standardile (Antimicrobial susceptibility testing with EUCAST criteria and methods). Siinkohal on sobilik esmalt meenutada, miks antimikroobset tundlikkust testitakse ja kuidas see on aegade jooksul meil toimunud.

Juba penitsilliini avastaja Alexander Fleming hoiatas, et antibiootikumide ebaõige kasutamine põhjustab mikroobide muutumist ravimresistentseteks. Tema oli ka esimene, kes eksperimentaalselt püüdis hinnata mikroobide tundlikkust antimikroobsete ainete suhtes. Flemingi ennustus sai teoks – varem või hiljem pärast uue antibiootikumi kasutuselevõttu muutus mingi osa mikroobidest, mille suhtes varem antibiootikum toimis, resistentseteks, põhjustades ravi ebaõnnestumisi. See tingis vajaduse enne ravi kontrollida, kas antibiootikum ikka toimib selle konkreetse infektsiooni korral.

Tänapäevalgi laialt kasutatav antibiootikumitundlikkuse testimise disk-difusiooni meetod pärineb eelmise sajandi 40. aastatest. Kümmeaastat hiljem alustati tundlikkuse testimise metoodikate standardiseerimisega. Mitmeid soovitusi ja standardeid töötas välja Maailma Terviseorganisatsioon ning Ameerikas NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards, hilisem CLSI e Clinical and Laboratory Standards Institute). Ka Euroopa riigid hakkasid välja töötama (igauks oma) standardeid ning neid tekkis vähemalt kuus.

Eri metoodikate harmoneerimise ja ühtse Euroopa standardi väljatöötami-

sega alustati 1990. aastate lõpus ning EUCAST asutati ametlikult 1997. aastal.

Ajalugu

Mikrobioloogiline diagnostika Eestis algas ametlikult aastal 1918, kui Karl Schlossmanni juhtimisel asutati ülikooli bakterioloogia kabinet (hilisem bakterioloogia instituut), mille juurde 1946. a loodi Kliinikute Valitsuse bakterioloogia ja seroloogia osakond (hilisema nimetusega Tartu Kliinilise Haigla eksperimentaallaboratoorium). 1979. a kolis nimetatud labor Maarjamõisa ja hakkas kandma nime Tartu Kliinilise Haigla mikrobioloogialabor.



Kursuse osalejad ja lektorid.

Tallinna Kiirabihaigla Mustamäel sai valmis Moskva olümpiamängudeks, avati 31. detsembril 1979, paar kuud hiljem seati sisse ka mikrobioloogia labor. Siiski arvestatav osa mikrobioloogilisest diagnostikast tehti tolal ajal sanitaar-epidemioloogijaaamade laborites.

Millal ja kuidas Eestis mikroobide antibiootikumtundlikkust määrada hakati, pole täpselt teada, kuid 1960–70-ndate testimisjuhistest võib lugeda, kuidas hinnata diskdifusiooni tulemusi.

Kõigi mikroobide ja antibiootikumide jaoks kehtisid samad kriteeriumid: kasvuvaba tsoon > 25 mm – mikroob on väga tundlik, 15–25 mm – mikroob on tundlik, kasvuvaba tsoon kuni 15 mm – mikroob on vähetundlik, tsoon puudub – mikroob on resistentne. Kuni 1990-ndate alguseni kasutasime Nõukogude Liidu toodetud söötmeid (AGV), antibiootikumide diske ja vastavaid interpreteerimisjuhiseid.

Tasside inokuleerimise meetodika ise oli siis veidi teine kui tänapäeval:

mikroobi suspensioon kallati söötmega tassile ja siis pipetiga imeti (mõnel pool veel suuga pipeteerides) liigne lahus ära, misjärel lisati ükshaaval diskid pintsettidega.

1990-ndate algul hakkas Eestisse tulema (osalt välismaise abina) selliseid antibiootikume, mida siin varem polnud ja mille kohta ka vastavad testdiskid puudusid. Siis ei jäänud muud üle, kui teha diskid ise – süstimiseks mõeldud pulber (või purustatud tablett) lahustati ja tilgutati iselõigatud filterpaberi kettale nii, et antibiootikumi hulk võis olla enam-vähem see, mis oli Ameerikas NCCLS-i soovitusel. Diskid kuivatati termostaadis ja kasutati niikaua, kui jätkus, ning siis tehti uus ports. Kvaliteedikontrollile siis veel eriti ei mõeldud.

Vahepeal sai siit-sealt ka abi korras välismaa diske, mida kasutati vastavalt tootja juhistele – seega olid kasutusel segamini eri diskid ja standardid. Segadust oli ka sellega, milliseid antibiootikume testida ja vastata. Kui 1976. aastal testitavate antibiootikumide vali-

kus oli seitse ravimit (samad kõigile mikroobidele), siis näiteks Tartus oli stafülokokkide reas 1989. aastal 24 ja 1992. aastal juba 31 antibiootikumi.

Uus tase

Uus tase saabus siis, kui Eestisse hakati lääneriikidest vahendama kommertsiaalseid laboritooteid. Tundlikkuse määramiseks kasutati siis nii diske ja NCCLS-i standardit kui ka ROSCO tablette koos nimetatud firma oma standardiga.

1994. aastal korraldasid Rootsi kolleegid ROSCO diskide kasutamise koolituse. 1990-ndate teises pooles viidi läbi mitmeid TÜ mikrobioloogia instituudi ja Rootsi infektsioonhaiguste kontrolli instituudi täiendusseminare antibiootikumitundlikkuse määramise ja standardiseerimise kohta. Eestis sai domineerivaks ameeriklaste NCCLS-i standard ning hakati sisse viima ka regulaarset kvaliteedikontrolli tüüp-tüvedega.

Koos standardite sisseviimisega sai ka selgemaks, milliseid antibiootikume

milliste mikroobigruppide suhtes on üldse mõtet testida ning mis preparaat võiks esindada tervet antibiootikumide gruppi.

EUCAST-i standardi kasutamise üle Eestis hakati arutama aastal 2004. Kuna alguses oli EUCAST standardiseerinud vaid puljonglahjendusmeetodi (mida rutiinis ei kasutatud), siis oodati, millal see laieneb ka igapäevatöös kasutatavale diskdifusioonmeetodile.

2009. a toimus Tartus EUCAST-i asutaja Gunnar Kahlmeteri osavõtul EUCAST-i tutvustav seminar ning sama aasta lõpuks moodustati ELMÜ juurde Eesti EUCAST-i ja kliinilise mikrobioloogia töörühm (alates aastast 2017 ELMÜ kliinilise mikrobioloogia seksioon). EUCAST-i standardile läksime üksmeelselt ja kiirelt aastal 2010.

Pidevas muutumises

Oma loomisest alates on EUCAST pidevalt uuendanud oma standardit, andes iga aasta alguseks välja uue versiooni. Juurde on tulnud uusi hindamiskriteeriume nii spetsiifilisematele/kitsamatele mikroobigruppidele kui ka järjest enamate ja uuemate antibiootikumide suhtes.

Kuna antibiootikumiresistentsus maailmas järjest laieneb ning lisandub uusi resistentsusmehhanisme (nt uued karbapenemaase kodeerivad geenivariandid), siis ka testimine peab ajaga kaasas käima ja pidevalt täienema. EUCAST on välja andnud hulgaliselt juhiseid resistentsusmehhanismide skriinimiseks/kinnitamiseks, kvaliteedikontrolliks jne.

Üks suuremaid muudatusi oli ravim tundlikkuse interpretatsioonide muutmine: senine „möödukalt tundlik“ (mis oli mõneti segadust tekitav) kategooria sai uue ja selge tõlgenduse „tundlik suuremas kontsentratsioonis“, mis tähendab, et mikroob allub antibiootikumi-ravile juhul, kui kasutatakse standardravist kõrgemaid antibiootikumi koguseid. Selleks on EUCAST avaldanud ka vastavad ravimi doseerimise soovitusel, mis põhinevad PK/PD andmetel.

Standardi täiendamisega muutub küll mikroobi tundlikkuse hindamine täpsemaks ja ravisoovitused tõendus põhisemaks, kuid samas ka laborile (eriti labori infosüsteemile) keerukamaks ja raviarstile raskemini tõlgendatavaks.

Näiteks kui varem vastasime, et *E. coli* on amoksitsilliin-klavulaanhappe

suhtes kas tundlik, tundlik kõrgemas kontsentratsioonis või resistentne, siis nüüd sõltub mikroobi tundlikkuse kategoriseerimine sellest, kas arst plaanib kasutada suukaudset või veenisest antibiootikumi, kas ravitakse komplitseerumata uroinfektsiooni, urotraktist lähtuvat infektsiooni või muu paikmega infektsiooni.

Õige interpretatsiooni andmise eelduseks on ka järjest rohkem korrektne mikroobi samastamine liigi tasemel, mis enne MALDI-TOF-i kasutuselevõttu oli sageli problemaatiline.

Et olla informeeritud pidevalt muutuva standardi osas ning eelkirjeldatud uute väljakutsetega toime tulla, korraldataksegi regulaarselt rahvusvahelisi EUCAST-i metoodika ja standardi koolitusi. Aastal 2019 pakuti selle korraldamise võimalust Eestile, kursus ise oli algselt planeeritud 2020. aasta sügisse, kuid COVID-i tõttu lükkus kaks aastat edasi.

Kursuse korraldamine

Kursust toetas rahaliselt ESCMID/ EUCAST ja EUCAST-i komitee liikmed panustasid lektoritena. Eesti poolele jäi lõpliku programmi kokkupanek,



Laboratoorne sessioon ITK mikrobioloogia laboris.



Kursuse teoreetiline osa Confido ruumides. Pildil on Paul Naaber ja Gunnar Kahlmeter.

täiendavate lektorite leidmine, sotsiaalne programm ja kõik korralduslikud küsimused.

Muudes riikides korraldavad selliseid koolitusi üldjuhul ülikoolide haiglad koos suurte kesklaboritega. Kuna meil Tallinnas ei ole sellist suurt laborit, kus saaks läbi viia korraga 40–50 inimesele praktilist laboratoorset sessiooni, siis otsustasime paralleelsessioonide kasuks kolmes mikrobioloogia laboris: ITKH-s, PERH-is ja SYNLAB-is. Teoreetiline loengute osa toimus Confido ruumides.

Kokku osales kursusel 45 osalejat 20 riigist – suurem osa mikrobioloogid, kuid oli ka klinitsiste, farmakolooge ja teiste erialade esindajaid. Osalejad tulid isegi Austraaliast, kuna nemad hakkavad järgmisena korraldama analoogset kursust Melbourne'is. Lektoreid oli kokku 15, kes esindasid mitmeid Euroopa organisatsioone lisaks EUCAST-ile: European Medicines Agency (EMA), The European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC), European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID), ESCMID PK/PD of Anti-Infectives Study Group (EPASG) ja ESCMID Study Group for Antimicrobial Resistance Surveillance (ESGARS).

Lisaks EUCAST-i metoodika ja uuenduste tutvustamisele sisaldas programm ka laiemalt antibiootikumiresistentsust puudutavaid teemasid. Tuletati meelde antibiootikumide farmakokineetika ja farmakodünaamika põhimõtteid ning kuidas ravimresistentsuse hindamiskriteeriumid nendega seotud on. Lisaks rutiinselt kasutatavatele meetoditele nagu diskdifusioon ja puljonglahjendusmeetod tutvustati uudseid tehnoloogilisi lähenemisi ja antibiootikumiresistentsuse määramist mikroobi genotüübi kaudu.

Kuna antibiootikumiresistentsuse levik on ülemaailmselt üks olulisemaid tervishoiuprobleeme, siis pühendasime eraldi sessiooni resistentsuse järelevalve ja ohjamise võimalustele. Tutvustasime meie koordineeritud üleeuroopalisi resistentsuse epidemioloogia uuringuid (Anastasia Bilozor: ESBL- and carbapenemase-producing Gram-negative bacilli: epidemiology in North-Eastern Europe).

Resistentsuse järelevalve üks võimalikke rakendusi on kohalike epidemioloogiliste andmete kasutamine kohalikes ravijuhistes, mille põhimõtetest andis ülevaate Tim Eckmanns Robert Kochi instituudist. Ei puudunud ka kultuuriprogramm – lisaks ühisele

õhtusöögile korraldati ekskursioon Tallinna vanalinnas.

Kuigi sellise rahvusvahelise ürituse korraldamine oli meile suureks proovikiviks, võime nentida, et see andis meile olulise kogemuse ning võimaldas mitmel Eesti kolleegidel osaleda rahvusvahelisel koolitusel, mis puudutab igapäevast laboratoorset tegevust. Abiks oli siin ka ELMÜ stipendium, mis võimaldas osaleda veel Eesti mikrobioloogil. Lisaks saime nii osalejatele kui Euroopa tippspetsialistidele tutvustada Eestit ja meie laboratoorse diagnostika võimalusi.

Kuna esindatud olid mitmed EUCAST-i, ESCMID-i ja ECDC võtmeisikud, siis selline kolleegidega suhtlemine ja uute sidemete loomine on kindlasti oluline edasiseks koostööks üleeuroopaliste organisatsioonidega.

Kursuse tutvustamine laiemale kuulajaskonnale toimus ELMÜ aastakoosolekul 2022. aasta detsembris. 🧡

Tänuõnad

Täname Krista Lõivukest ajalooliste materjalide eest.