

Doktoritöö tulemused aitavad **tuberkuloosi** paremini diagnoosida

Tuberkuloos (TB) on antibiootikumidega ravitav nakkushaigus, mida põhjustab väga aeglase kasvuga bakter *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) kompleksist. TB levib vaid inimeselt inimesele ja põhjustab üle maailma igal aastal 10 miljonit uut haigestumist ning 1,3 miljonit surma. Et TB põhjustatud suremust ja haigestumisi vähendada, tuleb haigus diagnoosida võimalikult kiiresti. Paranemiseks ja õige raviskeemi määramiseks on lisaks tuberkuloosibakteri tuvastamisele tarvis määrata ka bakteri ravimitundlikkus, sest TB ravi koosneb korraga vähemalt neljast efektiivsest ravimist.



Kadri Klaos
laborispetsialist
kliinilise mikrobioloogia
ja mükobakterioloogia osakonna
mükobakterioloogia labor
Tartu Ülikooli Kliinikumi ühendlabor

6. veebruaril 2026 kaitsesin Tartu Ülikooli meditsiiniteaduste valdkonnas oma doktoritöö teemal „The thin-layer agar MDR/XDR-TB Colour Test: filling the gap in diagnosing tuberculosis from a laboratory perspective“ ehk „Multiresistentse ja eriti resistentse tuberkuloosi diagnostika õhukesel agaril põhineva värvustestiga korvamaks seniseid puudujääke labori poolel“. Juhendajateks olid professor Alan Altraja MD, PhD, Tartu Ülikooli pulmonoloogia osakonnast ja professor Francis Drobniowski MD, PhD, Londoni Imperial College'i infektsioonhaiguste õppetoolist. Oponentideks oli Sven Erik Sigfrid Hoffner PhD, Rootsist Karolinska instituudist.

Miks ei suudeta TB levikule piiri panna?

TB kiire diagnostika on keeruline, kuna *M. tuberculosis* kompleksi bakterid kasvavad väga aeglaselt ja on see-

tõttu rutiinsetes kliinilise mikrobioloogia laborites eraldi algoritmita tuvastatud. Lisaks on traditsioonilise fenotüübilise ravimitundlikkuse eelduseks bakteri puhaskultuur, mille ohutuks paljundamiseks ja käsitlemiseks on vaja kolmanda ohuastme nõuetele vastavat laborit. Seetõttu püüab tänapäeva laboratoorne TB diagnostika minna üle turvalisematele meetoditele, mis ei vaja bakterite paljundamist ja mida saab teha patsiendile lähemal.

Maailma Terviseorganisatsioon soovib TB laboratoorseks diagnostikaks kasutada pigem molekulaarseid kiirteste kui traditsioonilist külvi ja mikroskoopi. Molekulaarsed kiirtestid on muutnud TB laboratoorset diagnostikat kiiremaks, olles väga tundlikud ja tuberkuloositekitaja suhtes spetsiifilised. Samal ajal on need aga kulukad ja vajavad usaldusväärseks toimimiseks korralikku taristut ja kogenud personali. Neid tingimusi on keeruline täita kõrge haigestumusega piirkondades, mis võit-

levad maailma suurima arvu TB juhtudega. Nendesse piirkondadesse tuleb leida TB laboratoorse diagnostika strateegia, mis on kiire, lihtne ja vastupidav ning mida saab teha patsientidele lähemal, ehk ka mikroskoopiakeskustes.

Õhukesel agaril põhinev MDR/XDR-TB Colour test

Esmakordselt TB laboratoorse diagnostikaga kokku puutudes hämmastas mind meetodikate kõrge hind ja laborite sõltuvus Maailma Terviseorganisatsiooni soovitustest. Seoses üle-euroopalise projektiga tekkis mul võimalus tutvuda ühe külvimeetodiga TB diagnostikaks, MDR/XDR-TB värvustestiga (CT), mis ei olnud sõltuv kindlast tootjast. Mulle tundus see meetod paljulubav ja mind huvitas, miks selliseid traditsioonilise mikrobioloogia sarnaseid meetodeid TB diagnostikas võrdlemisi vähe kasutatakse. Seetõttu hindasin oma doktoritöös TB mikrobioloogiliseks diagnostikaks kasutatava



Vasakult: juhendaja professor dr Alan Altraja, oponent professor Sven Hoffner, doktorant Kadri Klaos ja juhendaja dr Francis Drobniowski.

“Mulle tundus see meetod paljulubav ja mind huvitas, miks selliseid traditsioonilise mikrobioloogia sarnaseid meetodeid TB diagnostikas võrdlemisi vähe kasutatakse. Seetõttu hindasin oma doktoritöös TB mikrobioloogiliseks diagnostikaks kasutatava CT-meetodi usaldusväärsust, korratavust ja objektiivsust võrreldes Maailma Terviseorganisatsiooni soovitatud meetoditega nii TB diagnoosimisel kui ka ravimitundlikkuse hindamisel isoniasiid, rifampitsiini ja levofloksatsiini suhtes.

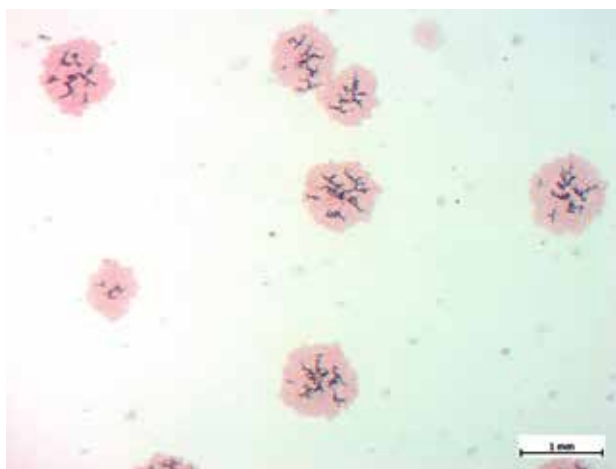
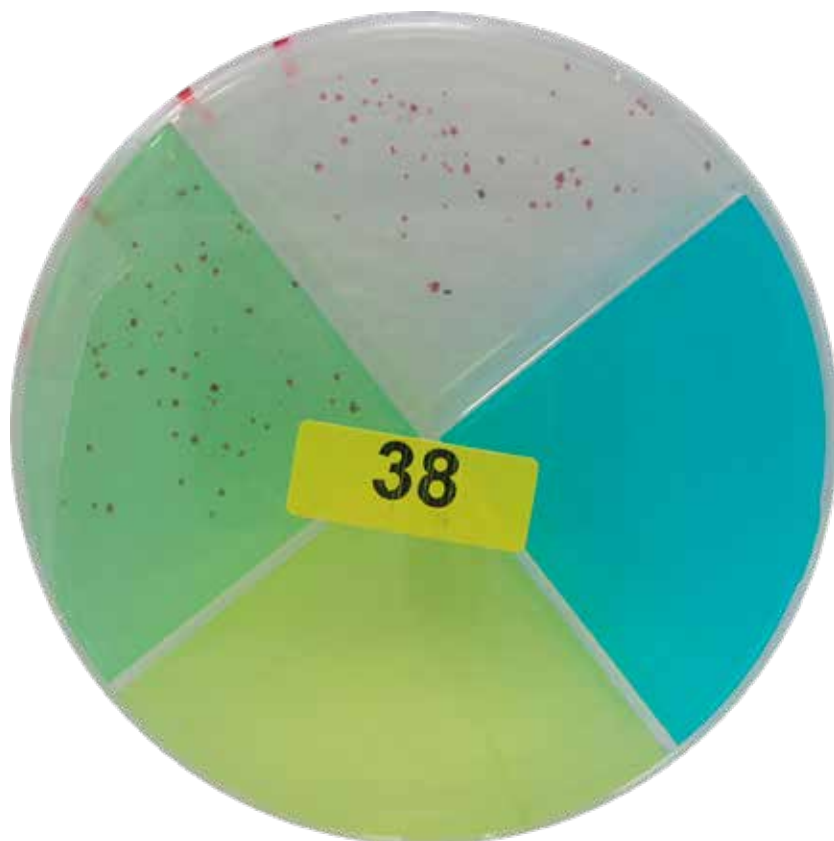
CT-meetodi usaldusväärsust, korratavust ja objektiivsust võrreldes Maailma Terviseorganisatsiooni soovitatud meetoditega nii TB diagnoosimisel kui ka ravimitundlikkuse hindamisel isoniasiid, rifampitsiini ja levofloksatsiini suhtes.

CT on laboris valmistatav külvitest, mille aluseks on tassile õhukeselt valatud värvusindikaatoriga segatud sööde. Õhuke agar võimaldab koloonia morfoloogiat läbi agari mikroskoobiga hinnata. Lisaks TB tuvastamisele (kasvavad bakterikolooniad värvuvad punasteks) võimaldab CT patsiendi materjalist samaaegselt määrata ka ravimitundlikkust, sest tassil on neli sektorit, millest kolmes sisaldub ka vastav antibiootikum (joonis 1).

Uuringu käigus õnnestus CT-meetod pärast sissejuhatavat koolitust probleemideta SA TÜK ühendlabori ja Põhja-Eesti Regionaalhaigla mükobakterioloogia laboritesse kasutusele võtta. Üle 70% (n = 246) doktoritöö osatöodes I ja II käsitletud *M. tuberculosis* isolaadist olid multiravimresistentset ehk resistentsed vähemalt rifampitsiinile ja isoniasiidile^{1, 2}. Nendest omakorda üle viiendiku ehk 51 *M. tuberculosis* isolaati olid lisaks veel resistentsed ka ühele fluorokinolonile ja ühele süstitavatest ravimitest (amikatsiinile, kanamütsiinile või kapreomütsiinile), kuuludes kuni 2021. aastani kehtinud Maailma Terviseorganisatsiooni definitsiooni järgi eriti ravimresistentsete tüvede hulka.

Uuringu prospektiivses faasis osales 156 isikut, kellelt koguti uuringuks ja rutiinseteks analüüsideks kokku 177 proovimaterjali (147 röga, 27 bronhiloputusvedelikku ja 3 pleuravedelikku)³. Doktoritöö käigus valmistati, külvati ja hinnati kokku üle 1500 CT külvi. Tulemused näitasid, et CT-meetod annab järjepidevalt usaldusväärseid tulemusi, sõltumata hindajast ja proovimaterjalist. CT suutis edukalt tuvastada valimis leiduvad ravimresistentset TB vormid.

Doktoritöö üheks suureks avastuseks oli see, et CT kasutamine uuringu prospektiivses faasis võimaldas ravimi-



Joonis 1. MDR/XDR-TB Colour test. Värvitu – kasvukontroll; roheline – isoniasiid sisaldav sektor; kollane – rifampitsiini sisaldav sektor; sinine – levofloksatsiini sisaldav sektor. Kõrval suurendatult *M. tuberculosis* koloonia morfoloogia õhukesel agaril.

tundlikkusi kiiremini määrata kui referentsmeetodiga. Vastavalt võttis ravimitundlikkus isoniasiid ja rifampitsiini suhtes CT otsest meetodit kasutades 20 päeva (IQR 14–26,75) võrreldes BACTEC MGIT 24,5 (IQR 18,25–32) päevaga, $p = 0,029$. Ravimitundlikkuse hinnang levofloksatsiini suhtes võttis CT otsest meetodit kasutades samuti vähem aega kui BACTEC MGIT süs-

teem, vastavalt 19 (IQR 13–22) ja 29,5 (23–40,25) päeva, $p < 0,001^3$.

Eestis leiduvate *Mycobacterium tuberculosis* tüvede molekulaarne epidemioloogia

Lisaks fenotüübilisele ravimitundlikkuse meetodile uurisin doktoritöö osatöös IV *M. tuberculosis* tüvede levikut,

kasutades tandemkorduste muutuva mustri (ingl *variable numbers of tandem repeat*, VNTR) meetodit. Uuringu käigus analüüsisin 2009–2012 kogutud *M. tuberculosis* tüvede VNTR tüpiseerimise mustreid. Ühte klastrisse loeti tüved, mis olid VNTR mustri poolest omavahel identsed⁴.

Leidsin, et klastritesse kuulus 630 (69,1%) osatöö IV valimis olnud tüvedest. Neli suuremat klastrit koosnesid üle 20 *M. tuberculosis* tüvest ja suurim klaster sisaldas 178 identse VNTR mustriga tüve. Suurim klaster pärines Beijingi liinist ja 164 (92,1%) sinna kuuluvatest tüvedest olid vähemalt multiravimresistentsed. Seega uuring kinnitas, et Eestis levinud *M. tuberculosis* tüved, aga eriti just multiravimresistentsed tüved klasterduvad VNTR meetodi põhjal olulisel määral.

Doktoriõpingud võtsid kaua aega, kuid andsid uuringute planeerimises, juhtimises ja publitseerimises palju kogemusi. Olen väga õnnelik, et minu juhendajate kannatus ning entusiasm ei katkenud kogu doktoritöö vältel. Olen tänulik ka oma kolleegidele SA Tartu Ülikooli Kliinikumi ühendlaboris ja Põhja-Eesti Regionaalhaigla laboratooriumis toetuse ja julgustavate sõnade eest. Minu doktoritöös tehtud uuringud parendasid meie koostööd veelgi. 🌟

Dokoritöö aluseks olevad artiklid

1. Toit, K., Mitchell, S., Balabanova, Y., Evans, C. A., Kummik, T., Nikolayevskyy, V. and Drobniewski, F. The Colour Test for drug susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis* strains. *Int J Tuberc Lung Dis* 2012;16(8):1113–8.
2. Klaos, K., Agejeva, A., Kummik, T., Laks, S., Remets, O., Sasi, S., Tann, A., Viiklepp, P. and Altraja, A. A successful introduction to a non-expert setting of the thin-layer agar Colour Test as an indirect phenotypic drug susceptibility test for *Mycobacterium tuberculosis*. *Int J Infect Dis* 2021;104:19–26.
3. Klaos, K., Agejeva, A., Hurt, K., Kummik, T., Kurve, A., Nirk, J., Pehme, L., Remets, O., Sasi, S., Tann, A. and Altraja, A. Prospective evaluation of thin-layer agar colour test in routine diagnosis of multidrug-resistant TB. *Int J Tuberc Lung Dis* 2024;28(8): 387–394.
4. Toit, K., Altraja, A., Acosta, C. D., Viiklepp, P., Kremer, K., Kummik, T., Danilovits, M., Van den Bergh, R., Harries, A. D. and Supply, P. A four-year nationwide molecular epidemiological study in Estonia: risk factors for tuberculosis transmission. *Public Health Action* 2014;4(3):S34–40.