

Hiivojen tunnistus- ja herkkyysmääritys

Päivi Mähönen, Sairaalamikrobiologi, Vita Laboratoriot Oy

Ihmiset ja sienet ovat tottuneita yhdessä eläjiä ja pääsääntöisesti se hoituu vieläpä ihan sulassa sovussa. Pitkälle kehittynyt lääketiede on kuitenkin vaikuttanut sieni-infektioiden lisääntymiseen jo pidemmän aikaa. Ja toisaalta lisääntyvien mikrobilääkehoitojen seurauksena sienten vastustuskyky lääkaineita kohtaan lisääntyy aiheuttaen näin kasvavia hoidollisia haasteita. Maailmanlaajuisesti miljoonat ihmiset saavat vuosittain invasiivisen henkeä uhkaavan sieni-infektion eli mykoosin. Suomessa syviä sieni-infektioita todetaan noin 200-300 vuodessa. Sieni-infektioille altistavat erityisesti immuunipuolustuksen alaneminen mm. sairaudesta tai tiettyjen lääkkeiden immuunipuolustusta alentavasta vaikutuksesta. Tällä luennolla tarkastellaan sienidiagnostiikan osalta hiivojen tunnistamiseen ja hiivaherkkyysmäärityksiin liittyviä seikkoja.

Hiivojen osalta laboriodiagnostiikka pohjautuu edelleen pääosin viljelymenetelmiin niin hiivan tunnistamisen kuin myös herkkyysmäärityksen osalta. Sieniviljelyyn tulevat näytteet viljellään totutusti hiivaviljelyyn tarkoitetuille elatusaineille kuten Saboraud dekstroosi agar (SDA) ja kromogeeniselle hiivamaljalle (mm. CHROMagar Candida) ja kasvatetaan yleisesti +30°C ja +37°C asteessa. Yleensä hiivakasvu on havaittavissa parin päivän kasvatuksen jälkeen. Myös veriviljelyssä voi kasvaa hiiva. Kasvava hiiva tunnistetaan perinteisesti pesäke- ja mikromorfologian sekä biokemiallisten reaktioiden (mm. ID 32C ja VITEK) avulla. Näin onnistutaan tunnistamaan varsin hyvin yleisimmät hiivainfektion aiheuttajat, mutta virheitä aiheutuu lähisukuisten ja heikosti kasvavien hiivojen kohdalla. Joka kerta ei tavanomainen kandidakaan ilmennä itseään normaaliin tapaan, mikä aiheuttaa laboratoriossa haasteita. Viime aikoina huolia on maailmanlaajuisesti aiheuttanut usealla sienilääkkeelle resistentti kandidalaji, *Candida auris*, jonka tunnistamisessa perinteiset biokemialliset menetelmät ovat varsin kehoja eikä oikean lajinimen löytäminen näin tahdo onnistua. Onneksi massaspektrometriaan pohjatuva MALDI-TOF-menetelmästä on saatu hiivadiagnostiikkaan kaivattua lisätehoa niin tarkkuuden kuin myös nopeuden osalta. MALDI-TOF mahdollistaa yhä tarkemman hiivan tunnistamisen kliinisistä näytteistä kattaen myös haastavammin tunnistettavat hiivat, kuten *C. auris*. Hiivaherkkyysmäärityksen ohessa hiivan oikea nimeäminen on ensiarvoisen tärkeää oikean mikrobilääkehoidon aloituksen näkökulmasta.

Nukleiinihappo-osoitusmenetelmä on massaspektrometrian ohella tärkeä hiivojen identifioinnissa. Polymeerasiketjureaktio (PCR) ja geenisekvensointi mahdollistavat nopean ja tarkan hiivan tunnistamisen. Nämä menetelmät soveltuvat lähinnä steriilien näytteiden tutkimiseen tai hiivaviljelystä eristettyjen kantojen tunnistamiseen. Nukleiinihappomenetelmä ei kuitenkaan riittämättömän herkkyuden takia sovellu hiivadiagnostiikkaan suoraan verinäytteestä ja tällöin hyödynnetäänkin verrattain hidasta ja epäherkkää veriviljelystä. Potilaan mahdollisesti saama hiivalääke alentaa veriviljelyn herkkyttä entisestään. Molekyyli-mikrobiologisten menetelmin osalta uusia tuulia invasiivisten infektioiden hiivadiagnostiikkaan on tuonut/tuomassa T2 magneettinen resonanssi tutkimus (T2MR). T2MR teknologiassa yhdistyvät kaksi menetelmää: ydinmagneettinen resonanssi (NMR) ja PCR. T2Dx -laitteella ja T2Candida-paneelilla kyetään tunnistamaan suoraan verinäytteestä noin viidessä tunnissa viisi yleisintä kandida-lajia: *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* ja *C. krusei*. T2Candida voi oikein kohdennettuna nostaa sekä nopeuttaa että herkkyttä hiivan aiheuttamien verenmyrkytysten tunnistamisessa.

Molekyyli-mikrobiologiset menetelmät tuovat kaivattua lisäherkkyttä sienten tunnistamiseen. Hiivaherkkyden määrittämisessä nojaututaan kuitenkin edelleen kasvavasta hiivasta tehtävään herkkyysmääritykseen, joten hiivaviljely on edelleen tärkeässä roolissa. Toki maailmalla tehdään tutkimuksia mm. MALDI-TOFin ja PCR:n hyödyntämisestä hiivaherkkyysmäärityksessä, mutta matka taitaa olla vielä aika pitkä. Viljelyyn pohjautuvaan hiivaherkkyysmääritykseen on kaksi standardoitua menetelmää, joiden laatimisesta vastaavat EUCAST (The European Committee on Antibiotic Susceptibility Testing) ja CLSI (Clinical Laboratory Standard Institute).

Suomessa ja kattavasti koko Euroopassa vallitseva standardi on EUCAST. EUCAST on määrittänyt hiivaherkkyysrajat lajikohtaisesti seitsemälle eri kandidalle: *C. albicans*, *C. dubliniensis*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* ja *C. guilliermondii*. Herkkyyserajat löytyvät kandidalajin mukaan eri antimykooteille: amfoterisiini B, atsolit (fluko-, itrako-, voriko- ja posakonatsoli) ja ekinokandiiniit (anidula-, kaspo- ja mikafungiini). Yleiset rajat muiden kandidoiden osalta on määritetty ainoastaan flukonatsolille. EUCAST:n rajat on määritetty tehtäväksi liemilaimennosmenetelmällä. Käytännössä yleisin käytetty menetelmä hiivaherkkyden määrittämiseen on kuitenkin gradienttiliuskamenetelmä (esim. E-testi) ja toisaalta VITEKillä tehtävä herkkyysmäärittäminen. Luennolla tarkastellaan hiivojen tunnistamisen lisäksi seikkoja, joita voi hiivaherkkyden luennossa tulla vastaan.