
Παρουσίαση του συστήματος EUCAST

Ευαγγελία Λεμπέση

ΙΑτρός Βιοπαθολόγος, Κλινική Μικροβιολόγος
Διευθύντρια Μικροβιολογικού Εργαστηρίου
Νοσοκομείο Παιδών Αθηνών Παναγιώτη και Αγλαΐας Κυριακού

Θεματολογία

- Εισαγωγή
- Στόχοι της EUCAST
- Δομή και λειτουργία
- Επιδημιολογικά και Κλινικά Όρια ευαισθησίας / αντοχής
- Ορολογία EUCAST, νέοι ορισμοί S, I, R (από 1-1-2019)
- Περιοχή Τεχνικής Αβεβαιότητας (Area of Technical Uncertainty, ATU)
- Διαδικασίες ορισμού ορίων ευαισθησίας / αντοχής νέων αντιμικροβιακών και αναθεώρησης αυτών
- Περιήγηση στους πίνακες των Κλινικών Ορίων της EUCAST

Εισαγωγή

Σε ευρωπαϊκό επίπεδο, όλες πλέον οι χώρες έχουν υιοθετήσει τις οδηγίες και τα όρια ευαισθησίας της **EUCAST** (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing). Η αποδοχή και υιοθέτηση ενός κοινού συστήματος αναφοράς από τα κράτη μέλη της Ευρωπαϊκής Ένωσης εξασφαλίζει την επικοινωνία σε μια κοινή γλώσσα τόσο σε εργαστηριακό όσο και σε κλινικό επίπεδο, προάγει την επιδημιολογική επιτήρηση και συμβάλλει στην κατάρτιση κοινών κατευθυντήριων οδηγιών.

Για τους λόγους αυτούς το 2017 συστάθηκε και στη χώρα μας η **Εθνική Επιτροπή Αντιβιογράμματος** (Υ.Α. Α1β/Γ.Π.οικ.:59315/1-8-2017 και Α1β/Γ.Π.:οικ.81394/1-11-2017), η οποία στην 1^η της συνεδρίαση τον Δεκέμβριο 2017 αποφάσισε την εναρμόνιση των εργαστηρίων της χώρας στις διαδικασίες / οδηγίες και τα κριτήρια της EUCAST.

Στόχοι της EUCAST

Η EUCAST (www.eucast.org) ιδρύθηκε το 1997 με πρωτοβουλία της ESCMID (European Society for Clinical Microbiology and Infectious Diseases) και το 2002 αναδιοργανώθηκε στην παρούσα της μορφή με τη συμμετοχή 6 εθνικών επιτροπών αντιβιογράμματος (National Antimicrobial Susceptibility Testing Committees, NACs) με βασικό σκοπό την εναρμόνιση των ορίων ευαισθησίας στην Ευρώπη. Από τότε λειτουργεί ως η επίσημη επιτροπή του ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control) και της EMA (European Medical Agency) για τον ορισμό των ορίων ευαισθησίας και βρίσκεται υπό την αιγίδα της ESCMID και του ECDC.

Η EUCAST χρηματοδοτείται από την ESCMID και το ECDC, ενώ δεν δέχεται επιχορηγήσεις από τη βιομηχανία. Αποτελεί τον επίσημο σύμβουλο και άλλων οργανισμών της Ευρωπαϊκής Ένωσης που έχουν σχέση με την υγεία, σε ζητήματα ελέγχου της ευαισθησίας των μικροβίων στις αντιμικροβιακές ουσίες και στην ανίχνευση μηχανισμών της μικροβιακής αντοχής.

Σύμφωνα με το καταστατικό της (*“EUCAST statutes” - τελευταία αναθεώρηση 11-04-2016*), το αντικείμενο εργασίας της EUCAST έχει ως εξής:

- Εναρμόνιση των ευρωπαϊκών κλινικών ορίων ευαισθησίας για τα υπάρχοντα αντιμικροβιακά και καθορισμό των κλινικών ορίων για τα νέα σε στενή συνεργασία με το ECDC και την EMA.
- Καθορισμός των επιδημιολογικών ορίων cut-off (ECOFFs ή ECV, epidemiological cut-off values) για βακτήρια και μύκητες σε κάθε αντιμικροβιακό παράγοντα με στόχο την επιτήρηση της αντοχής.
- Ανάπτυξη και προτυποποίηση των μεθοδολογιών του in vitro ελέγχου της ευαισθησίας των μικροβίων και προώθηση της διασφάλισης της ποιότητας στις αντίστοιχες μεθοδολογίες.
- Εκπαίδευση στα ζητήματα ελέγχου της ευαισθησίας (εθνικά και διεθνή workshops).
- Σύμπραξη με άλλους διεθνείς φορείς, όπως το CLSI, για συναίνεση σε θέματα ελέγχου της ευαισθησίας και θέσπισης κοινών ορίων σε διεθνές επίπεδο.

Η EUCAST δεν ασχολείται με τον έλεγχο των λοιμώξεων, με πολιτικές χρήσης αντιμικροβιακών, ούτε με την επιτήρηση της μικροβιακής αντοχής.

Δομή και λειτουργία

Η EUCAST διοικείται από μια **Οργανωτική Επιτροπή “Steering Committee, SC”**, η οποία λαμβάνει τις τελικές αποφάσεις με τη διαδικασία της συναίνεσης. Προτάσεις, προσωρινές αποφάσεις και σχέδια εγγράφων υποβάλλονται για διαβούλευση στη **Γενική Επιτροπή, “General Committee, GC”** (*EUCAST Committees and Subcommittees SOP v 4.4 / 29.07.2020*).

Η **SC** απαρτίζεται από μία 4μελή εκτελεστική επιτροπή (πρόεδρος, επιστημονικός γραμματέας, συντονιστής κλινικών δεδομένων και συντονιστής τεχνικών δεδομένων με 2ετή θητεία, η οποία διορίζεται από την ESCMID), από εκπροσώπους των 5 ευρωπαϊκών εθνικών επιτροπών (Ηνωμένου Βασιλείου, Γαλλίας, Γερμανίας, Νορβηγίας, Σουηδίας) και 2 εκπροσώπους από άλλες χώρες που συμμετέχουν στην **GC**, οι οποίοι εναλλάσσονται ανά διετία (για τη 2ετία 2020-2022 συμμετέχουν εκπρόσωποι της Βραζιλίας και της Ιταλίας). Επίσης, ως παρατηρητές συμμετέχουν εκπρόσωποι του ECDC και της EMA.

Τα μέλη της **SC** δηλώνουν στο προεδρείο κατά την έναρξη της θητείας τους τα εμπορικά συμφέροντα που μπορεί να έχουν με φαρμακευτικές ή άλλες εταιρείες του χώρου, και αποχωρούν από συζητήσεις θεμάτων, τα οποία σχετίζονται με αντίστοιχα συμφέροντα (αυτό καταγράφεται και στα πρακτικά).

Η **SC** συνεδριάζει τακτικά 5 φορές το χρόνο. Τα πρακτικά των συνεδριάσεων, αφού επικυρωθούν από τα μέλη στην επόμενη συνεδρίαση, δημοσιεύονται περιληπτικά στην ιστοσελίδα www.eucast.org. Η προετοιμασία των πρακτικών περιγράφεται αναλυτικά στο έγγραφο *“SOP v. 7.2 Preparation and handling of EUCAST minutes (29-07-2020)”*. Εμπιστευτικά δεδομένα που αφορούν νέα αντιμικροβιακά δεν δημοσιεύονται μέχρι να ολοκληρωθεί η σχετική διαδικασία σε συνεργασία με την EMA, η οποία είναι υπεύθυνη για την επιστημονική εκτίμηση και έγκριση των φαρμάκων στην Ευρωπαϊκή Ένωση.

Η **GC** απαρτίζεται από το ίδιο 4μελές προεδρείο (για να είναι εφικτή η σύνδεση με την SC) και έχει εκπροσώπους από όλες τις ευρωπαϊκές χώρες, αλλά και από χώρες εκτός Ευρώπης που έχουν υιοθετήσει ή ενδιαφέρονται να υιοθετήσουν τις οδηγίες της EUCAST, όπως Τουρκία, Ρωσία, Αυστραλία (εφαρμόζει ήδη από το 2012 τα όρια της EUCAST), Νέα Ζηλανδία, Κίνα, Ισραήλ, Μάλτα, Μαρόκο, Ν. Αφρική, Βραζιλία, Ουκρανία, Μολδαβία, Καναδάς, USA (USCAST, United States Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing, 2013). Στην επιτροπή συμμετέχει επιπλέον και εκπρόσωπος της ISC (International Society for Chemotherapy).

Η **GC** συνεδριάζει ανοικτά μια φορά το χρόνο στα πλαίσια του European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID). Τα πρακτικά των συνεδριάσεων, αφού επικυρωθούν, δημοσιεύονται στο διαδίκτυο (www.eucast.org, "Preparation and handling of EUCAST minutes, SOP v.7.2 /29-07-2020").

Επιπλέον, η **SC** απευθύνεται μέσω "**email networks**" σε:

- μεμονωμένους επιστήμονες ή φορείς ειδικούς στο πεδίο των λοιμώξεων και της μικροβιολογίας,
- φαρμακευτικές βιομηχανίες, και
- εταιρείες που κατασκευάζουν αυτοματοποιημένα AST μηχανήματα ή παράγουν υλικά σχετικά με τον έλεγχο της ευαισθησίας στα αντιμικροβιακά, προκειμένου να εκφράσουν τη γνώμη τους στα προτεινόμενα σχέδια.

Επιμέρους ζητήματα επεξεργάζονται από διάφορες **υποεπιτροπές εργασίας (EUCAST Committees and Subcommittees SOP v.4.4 / 29.07.2020)**. Σήμερα λειτουργούν 6 μόνιμες υποεπιτροπές (subcommittees):

- Antifungal Susceptibility Testing Subcommittee, EUCAST AFST με έτος σύστασης το 2002, στο οποίο συμμετέχει ως συντονιστής κλινικών δεδομένων ο κ. Ιωσήφ Μελετιάδης, Επίκουρος Καθηγητής Μικροβιολογίας, Ιατρική Σχολή ΕΚΠΑ, Νοσοκομείο "Αττικών"
- Antimycobacterial susceptibility testing Subcommittee, EUCAST AMST (Last Workshop 04.02.2020)
- Veterinary Antimicrobial Susceptibility Testing Subcommittee, VetCAST, με έτος σύστασης το 2015
- Subcommittee on the role of whole genome sequencing in antimicrobial susceptibility testing με έτος σύστασης το 2015 (First Report: doi.org/10.1016/j.cmi.2016.11.012)
- Subcommittee on MIC distributions and the setting of ECOFFs με έτος σύστασης το 2015. (SOP No 10 2017).
- Subcommittee on Anaerobe Susceptibility Testing (επανιδρύθηκε το 2019)

Ειδικές επιτροπές, "*Ad hoc* Subcommittees", με συγκεκριμένο αντικείμενο μελέτης μπορεί να ιδρυθούν από την **SC**, οι οποίες καταργούνται όταν ολοκληρώσουν το έργο τους, όπως για παράδειγμα:

- Subcommittee on Expert Rules and Intrinsic Resistance (2007-2011)
- Subcommittee on the Detection of Resistance mechanisms of clinical and/or public health importance (2011-2014)

Στη δομή της EUCAST συμπεριλαμβάνονται δύο συμβουλευτικά εργαστήρια (Development Laboratories) υπεύθυνα για τον έλεγχο της ευαισθησίας των βακτηρίων και των μυκήτων, τα εξής:

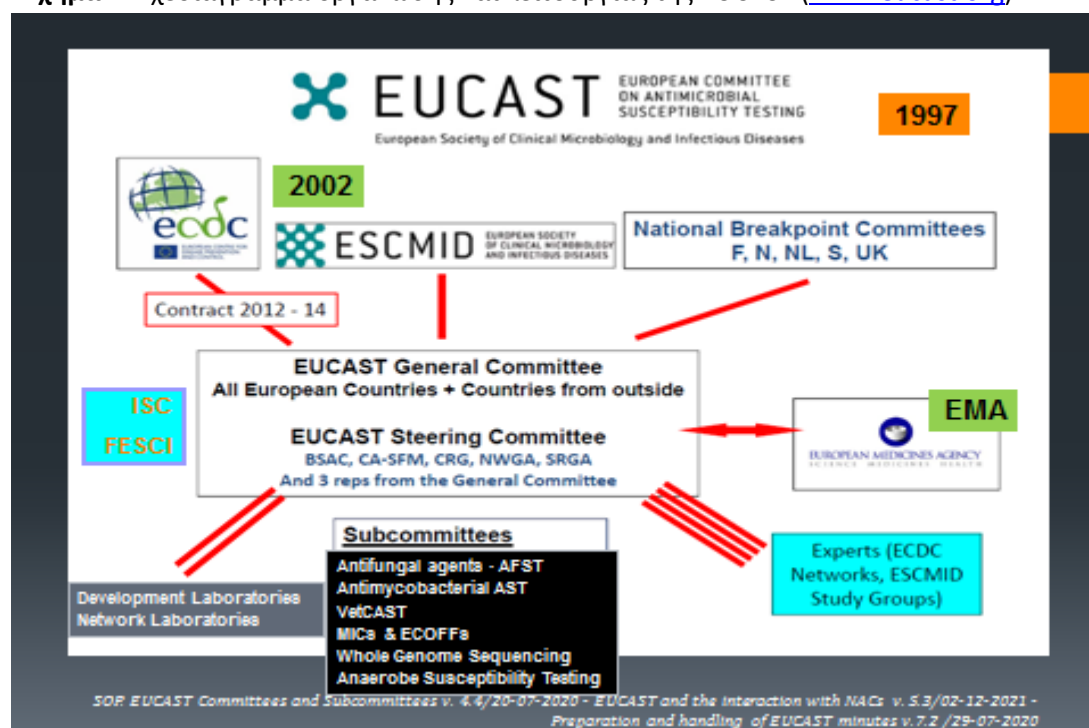
- EUCAST Development Laboratory (EDL) for bacteria, Vaxjo / Sweden και
- EUCAST Development Laboratory (EDL) for fungi, Copenhagen / Denmark

Η EUCAST διαθέτει ένα δίκτυο με μικροβιολογικά εργαστήρια (Network Laboratories) από διάφορες χώρες, εξειδικευμένα στον έλεγχο της ευαισθησίας των βακτηρίων ή των μυκήτων:

- EUCAST AST network laboratories (20 εργαστήρια, update 2021)
- EUCAST AFST (yeasts and moulds) network laboratories (15 εργαστήρια), μεταξύ των οποίων δύο από την Αθήνα (Clinical Microbiology Laboratory, contact person Dr J. Meletiadis, και Mycology Research Laboratory and UOA/HCPF culture collection, Department of Microbiology, Medical School, National and Kapodistrian University of Athens, Greece, contact person Dr A. Velegraki)

Η δομή και λειτουργία των οργάνων της EUCAST (SC, SG, NACs, υποεπιτροπές) περιγράφεται αναλυτικά στα “Standard Operation Procedures (SOP): EUCAST Committees and Subcommittees v. 4.4/29-07-2020” και “EUCAST and the interaction with NACs v. 5.3/02-12-2021” και απεικονίζεται διαγραμματικά στο Σχήμα 1.

Σχήμα 1. Σχεδιάγραμμα οργάνωσης και λειτουργίας της EUCAST (www.eucast.org)



Ο ιστότοπος www.eucast.org διευθύνεται από την EUCAST και την ESCMID, λειτουργεί σύμφωνα με το “SOP: EUCAST Organization and maintenance of EUCAST main websites v. 6.3/02-12-2021” και δημοσιεύει δωρεάν και ελεύθερα όλα τα έγγραφα και εγχειρίδια της EUCAST. Τα έγγραφα επικαιροποιούνται συστηματικά (Format and updates of documents, SOP v.8.2/29-07-2020) και μεταφράζονται συνεχώς σε όλο και περισσότερες γλώσσες. Ηδη είναι μεταφρασμένα σε: γερμανικά, ιταλικά, ισπανικά, γαλλικά, τσέχικα, σέρβικα, τούρκικα, κινέζικα και στις σκανδιναβικές γλώσσες.

Επιδημιολογικά και Κλινικά Όρια ευαισθησίας / αντοχής

Για την εκτίμηση της ευαισθησίας των μικροοργανισμών στους αντιμικροβιακούς παράγοντες, το σύστημα της EUCAST αναφέρεται στα:

1. Επιδημιολογικά όρια (Epidemiological cut-off, ECOFFs) και τα
2. Κλινικά όρια ευαισθησίας (S) και αντοχής (R) (Clinical Breakpoints, CBPs)

Το Επιδημιολογικό όριο, “Epidemiological cut-off, ECOFF”, είναι η τιμή της MIC του υπό εξέταση αντιμικροβιακού παράγοντα για ένα μικροοργανισμό, η οποία διαχωρίζει τα **Wild-Type (WT) στελέχη** (ο φυσικός μικροβιακός πληθυσμός χωρίς φαινοτυπικά ανιχνεύσιμους επίκτητους μηχανισμούς αντοχής στον υπό εξέταση αντιμικροβιακό παράγοντα) από τα **Non-Wild-Type (NWT) στελέχη** (ο μικροβιακός πληθυσμός με φαινοτυπικά ανιχνεύσιμους επίκτητους μηχανισμούς αντοχής στον υπό εξέταση αντιμικροβιακό παράγοντα).

Ως τιμή ECOFF επομένως, ορίζεται η μέγιστη τιμή MIC στην οποία ο μικροοργανισμός είναι στην WT μορφή του και εκφράζεται ως: $WT \leq X \text{ mg/L}$ ή μεταφρασμένο σε ζώνη αναστολής ως $WT \geq Y \text{ mm}$ (μέθοδος διάχυσης των δίσκων).

Ο καθορισμός της τιμής ECOFF βασίζεται στην ανάλυση μεγάλων κατανομών MICs για το συγκεκριμένο αντιμικροβιακό παράγοντα και μικροοργανισμό, “SOP EUCAST MIC distributions and the setting of epidemiological cut-off (ECOFF) values v.10.2/02-12-2021”. Οι κατανομές MICs (εκφρασμένες σε πίνακες και ιστογράμματα) περιλαμβάνουν δεδομένα από όλο τον κόσμο, από διαφορετικές χρονικές περιόδους (1950 - σήμερα) και από πολλαπλές πηγές, αφορούν πολλούς συνδυασμούς αντιμικροβιακών παραγόντων και μικροοργανισμών και δημοσιεύονται στον ιστότοπο της EUCAST (http://www.eucast.org/mic_distributions_and_ecoffs).

Το **Επιδημιολογικό όριο** αποτελεί δείκτη με βιολογική (είναι φυσικό και σταθερό μέγεθος), αλλά και επιδημιολογική αξία, γιατί βοηθάει στην παρακολούθηση ανάπτυξης αντοχής με την έγκαιρη ανίχνευση μικροοργανισμών με νέους μηχανισμούς αντοχής. Τα **Κλινικά όρια ευαισθησίας (S) ή αντοχής (R), “Clinical breakpoints”,** σχετίζονται με τα επίπεδα του αντιμικροβιακού παράγοντα στην κυκλοφορία του αίματος (φαρμακοκινητικές / φαρμακοδυναμικές παράμετροι, PK/PD), επομένως εξαρτώνται από το δοσολογικό σχήμα και την οδό χορήγησης.

Τα **κλινικά όρια** προσδιορίζονται από ευρείες κατανομές MICs, μεγάλες κλινικές μελέτες (σύγκριση τιμής MIC και θεραπευτικού αποτελέσματος), από φαρμακοκινητικές (Pharmacokinetic, PK) παραμέτρους (C_{max} , C_{min} , AUC, $T_{1/2}$, Protein binding, total body clearance, volume of distribution) καθώς και φαρμακοδυναμικές (Pharmakodynamic, PD) παραμέτρους (%T>MIC, AUC/MIC value, C_{max}/MIC). Η φαρμακοκινητική μελετά το “τι κάνει το σώμα στο φάρμακο – απορρόφηση, απελευθέρωση, κατανομή, μεταβολισμός, αποβολή – concentration vs time”. Η φαρμακοδυναμική μελετά το “τι κάνει το φάρμακο στον μικροοργανισμό – concentration vs effect”. Χρησιμοποιώντας το μαθηματικό μοντέλο “Monte Carlo Simulation” τα PK/PD δεδομένα αναλύονται, ώστε να υπολογιστούν οι πιθανότητες επίτευξης του στόχου (Probabilities of Target Attainment, PTA) σε διαφορετικές τιμές MIC.

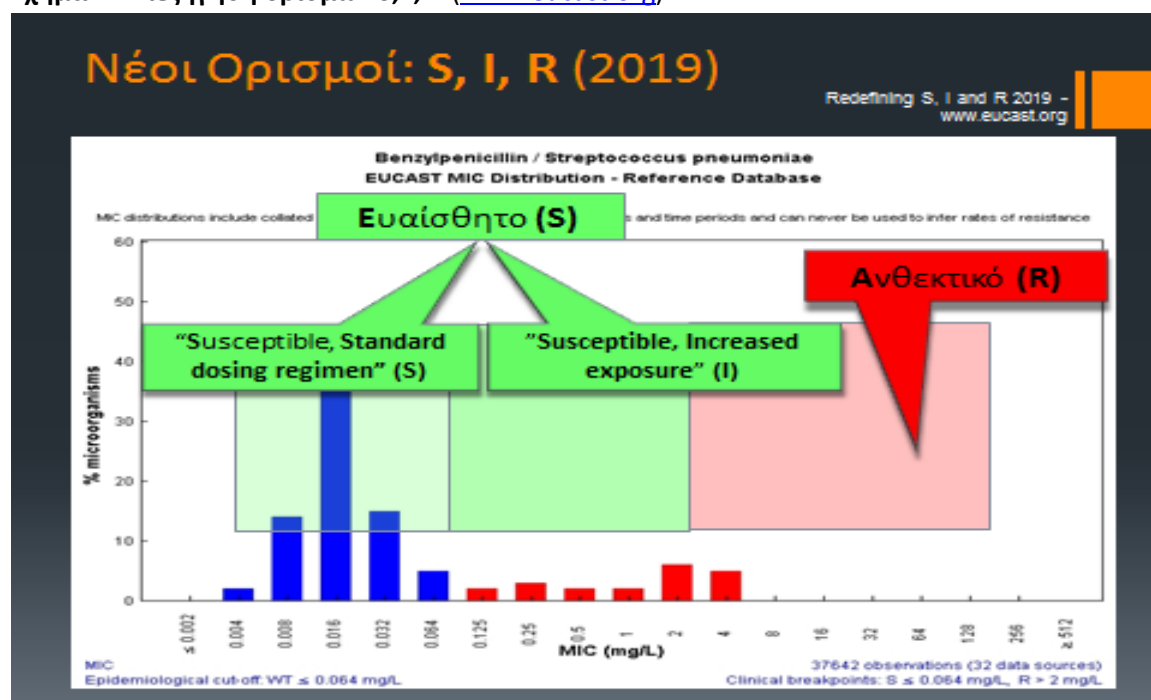
Τα **κλινικά όρια** καθορίζονται από το αποτέλεσμα στον άνθρωπο, αποτελούν δείκτη με κυρίως κλινική αξία και μπορεί να αλλάξουν ανάλογα με τα τρέχοντα επιστημονικά δεδομένα. Επιτρέπουν την ταξινόμηση των μικροοργανισμών σε τρεις κατηγορίες: 1) Ευαίσθητους στο σύνηθες (standard) δοσολογικό σχήμα (**Susceptible, standard dosing regimen, S**), 2) Ευαίσθητους σε αυξημένη έκθεση στο αντιμικροβιακό (**Intermediate, I**), και 3) Ανθεκτικούς (**Resistant, R**). Τα κλινικά όρια εκφράζονται ως τιμές MIC σε mg/L ($S \leq X \text{ mg/L}$ και $R > Y \text{ mg/L}$) ή μεταφρασμένα σε ζώνη αναστολής με τη μέθοδο διάχυσης των δίσκων, σε mm ($S \geq X \text{ mm}$ και $R < Y \text{ mm}$).

Για λόγους απλοποίησης, στους πίνακες της EUCAST η κατηγορία I (ευαισθησία, σε αυξημένη έκθεση) παραλείπεται, είτε πρόκειται για ζώνες αναστολής (mm) είτε για MIC (mg/L), μεταξύ S (ευαίσθητων) και R (ανθεκτικών) ορίων. Για παράδειγμα, όταν τα όρια ευαισθησίας (MIC) είναι: $S \leq 1 \text{ mg/L}$ και $R > 8 \text{ mg/L}$, το I είναι 2-8mg/L ή όταν $S \geq 22 \text{ mm}$ και $R < 18 \text{ mm}$, το I είναι 21-18mm.

Τα **κλινικά όρια** προσδιορίζονται στα Εργαστήρια Κλινικής Μικροβιολογίας με βάση την “ποσοτική” ευαισθησία του μικροοργανισμού στο συγκεκριμένο αντιμικροβιακό, όπως αυτή προσδιορίζεται από την τιμή της MIC και η κατηγοριοποίηση αυτή (S, I, ή R) αναφέρεται στο αντιβιογράμμα, το οποίο καθοδηγεί τον κλινικό γιατρό στη θεραπευτική αγωγή.

Οι ΟΡΙΣΜΟΙ “S, I, R”, όπως διαμορφώθηκαν από την EUCAST την 1-1-2019 (“Guidance document on the 2019 modifications of susceptibility categories S, I and R, 22-10-2018”, Σχήμα 2).

Σχήμα 2. Επεξήγηση ορισμών S, I, R (www.eucast.org)



Ορισμοί S, I, R

“Susceptible, standard dosing regimen”, ως διεθνές σύμβολο παραμένει το **S**.

Ευαίσθητος, με το σύνηθες δοσολογικό σχήμα (ως ελληνικό σύμβολο παραμένει το **Ε**).

Όταν ο αντιμικροβιακός παράγοντας χορηγείται στο σύνηθες δοσολογικό σχήμα, αναμένεται θεραπευτική επιτυχία.

“Susceptible, increased exposure”, ως διεθνές σύμβολο παραμένει το **I**.

Ευαίσθητος σε “Αυξημένη Έκθεση” (ως ελληνικό σύμβολο προτείνεται η σύντμηση “**ΜΕ**”, ή εναλλακτικά, “**ΑΕ**”).

Μόνο σε αυξημένη έκθεση* του μικροοργανισμού στον αντιμικροβιακό παράγοντα αναμένεται θεραπευτική επιτυχία.

“Resistant”, ως διεθνές σύμβολο παραμένει το **R**.

Ανθεκτικός (ως ελληνικό σύμβολο παραμένει το **A**).

Ακόμη και σε αυξημένη έκθεση* του μικροοργανισμού στον αντιμικροβιακό παράγοντα, αναμένεται θεραπευτική αποτυχία.

Στο **αντιβιογράμμα** τα στελέχη κατηγοριοποιούνται και αναφέρονται ως: S / E (Ευαίσθητα), I / ME ή I / AE (Ευαίσθητα σε Αυξημένη Έκθεση) και R / A (Ανθεκτικά).

Στις **στατιστικές μελέτες** τα στελέχη ταξινομούνται με τον ίδιο τρόπο (S / E, I / ME ή I / AE, και R / A). Ωστόσο, για λόγους απλοποίησης μπορούν να ταξινομηθούν τα S με τα I ως Ευαίσθητα, αλλά ποτέ δεν ταξινομούνται τα I με τα R ως Ανθεκτικά.

Τα κλινικά όρια ευαισθησίας/αντοχής της EUCAST βασίζονται σε **συγκεκριμένα δοσολογικά σχήματα** (συνήθης δόση / υψηλή δόση) και **συγκεκριμένες κλινικές οντότητες** (πχ μη επιπλεγμένη λοίμωξη ουροποιητικού**, ή ειδικές οντότητες, όπως μηνιγγίτιδα, λοίμωξη προερχόμενη από το ουροποιητικό σύστημα***, πνευμονία). επικαιροποιούνται κάθε χρόνο και δημοσιεύονται μαζί με τους πίνακες των κλινικών ορίων της EUCAST, “*Dosages, Clinical Breakpoint Tables v. 12.0, valid from 2022-01-01*”. Τα προτεινόμενα δοσολογικά σχήματα είναι ενδεικτικά και δεν υποκαθιστούν τις τοπικές, ή εθνικές κατευθυντήριες γραμμές. Ο διάλογος για τα παιδιατρικά δοσολογικά σχήματα άρχισε στις 11/1/2022.

Από το 2019 στους πίνακες των κλινικών ορίων ευαισθησίας / αντοχής της EUCAST, χρησιμοποιείται ένας νέος όρος (**ATU, Area of Technical Uncertainty / Περιοχή Τεχνικής Αβεβαιότητας**) για να “προειδοποιήσει τα εργαστήρια”, σχετικά με την αβεβαιότητα στην ερμηνεία κάποιων τιμών MIC ή ζωνών αναστολής (ATU – *the Area of Technical Uncertainty - Guidance document to laboratories, updated 15-01-2022, Graphs to illustrate ATUs, 15-01-2022*). Η τιμή ATU εμπίπτει σε ένα εύρος τιμών με δυσκολίες στην ερμηνεία και δεν σχετίζεται με αβεβαιότητες της μεθόδου (προσδιορισμός MIC ή μέθοδος δίσκων διάχυσης), θεωρώντας δεδομένη τη σωστή εφαρμογή της μεθόδου. Σε περίπτωση ανεύρεσης τιμών που εμπίπτουν εντός της περιοχής ATU, οι ενέργειες του Εργαστηρίου θα εξαρτηθούν από τον τύπο του δείγματος (ουροκαλλιέργεια / αιμοκαλλιέργεια), τις διαθέσιμες θεραπευτικές επιλογές, τη σοβαρότητα της νόσου και τη δυνατότητα επικοινωνίας με τον κλινικό γιατρό. Ενδεικτικά, προτείνονται τα παρακάτω:

- Επανάληψη του αντιβιογράμματος, ΜΟΝΟ επί υποψίας τεχνικού προβλήματος

* Η έκθεση του μικροοργανισμού στον αντιμικροβιακό παράγοντα επηρεάζεται από τον τρόπο χορήγησης, τη δόση, τον αριθμό των δόσεων, τον χρόνο έγχυσης, αλλά και από την κατανομή, τον μεταβολισμό και την απέκκριση του αντιμικροβιακού παράγοντα στη θέση της λοίμωξης. Μερικές φορές σχετίζεται και με τον τύπο της λοίμωξης (ουρολοίμωξη / μηνιγγίτιδα).

** **Μη Επιπλεγμένη Λοίμωξη Ουροποιητικού** (οξείες, σποραδικές ή υποτροπιάζουσες λοιμώξεις κατωτέρου ουροποιητικού / απλή κυστίτιδα σε ασθενείς χωρίς ανατομικές ή λειτουργικές ανωμαλίες του ουροποιητικού συστήματος)

*** **Λοίμωξη Προερχόμενη από το Ουροποιητικό Σύστημα** (προέρχεται από το ουροποιητικό, αλλά δεν περιορίζεται στην ουροδόχο κύστη, συμπεριλαμβανομένης της οξείας πυελονεφρίτιδας και μικροβιαμίας).

- Εφαρμογή εναλλακτικού test (πχ μεθοδολογίες προσδιορισμού MIC, PCR, διερεύνησης του μηχανισμού αντοχής), ιδιαίτερα όταν οι θεραπευτικές επιλογές είναι περιορισμένες
- Αναφορά του αποτελέσματος ως:
 - “Αμφίβολο” με ή χωρίς ερμηνεία και σχετικό σχόλιο
 - “Ανθεκτικό”, όταν υπάρχουν άλλες θεραπευτικές επιλογές
- Συζήτηση με τον κλινικό γιατρό, όταν οι θεραπευτικές επιλογές είναι περιορισμένες

Μετά το 2020, η EUCAST για ορισμένους αντιμικροβιακούς παράγοντες εισήγαγε όρια ευαισθησίας (breakpoints), τα οποία κατηγοριοποιούν μικροοργανισμούς “άγριου τύπου” (οργανισμούς χωρίς φαινοτυπικά ανιχνεύσιμους μηχανισμούς αντοχής στον αντιμικροβιακό παράγοντα) ως **"Ευαίσθητους, σε αυξημένη έκθεση (I)" αντί για "Ευαίσθητους, σε σύνηθες δοσολογικό σχήμα (S)"**. Τα όρια ευαισθησίας (S) για αυτούς τους συνδυασμούς μικροοργανισμού-αντιμικροβιακού παράγοντα παρατίθενται ως **“αυθαίρετα” breakpoints: $S \leq 0.001 \text{ mg/L}$ και $S \geq 50 \text{ mm}$** , έτσι ώστε οι μικροοργανισμοί αυτοί πρακτικά **να μην αναφέρονται ποτέ ως "Ευαίσθητοι, σε σύνηθες δοσολογικό σχήμα (S)"**.

Από το 2021, κάποια όρια ευαισθησίας ή αντοχής τίθενται σε παρένθεση. Τα όρια αυτά βασίζονται ουσιαστικά σε επιδημιολογικά όρια, "ECOFF values". Χρησιμοποιούνται για να διαχωρίσουν τα στελέχη σε εκείνα "με" και εκείνα "χωρίς" επίκτητο μηχανισμό αντοχής. Τα ECOFFs δεν προδικάζουν κλινική ανταπόκριση. Τα όρια ευαισθησίας ή αντοχής (breakpoints) των αμινογλυκοσιδών για συστηματικές λοιμώξεις τίθενται σε παρένθεση στους πίνακες της EUCAST, γι' αυτό, σε συστηματική λοίμωξη, η αμινογλυκοσίδη πρέπει να δίνεται πάντα σε συνδυασμό με άλλο δραστικό αντιμικροβιακό παράγοντα. Σε παρένθεση τίθενται και τα όρια ευαισθησίας ή αντοχής της κολιστίνης για *Enterobacteriales*, *Pseudomonas* spp και *Acinetobacter* spp από το 2022 (*EUCAST Guidance document / Breakpoints in brackets in breakpoints tables, 02-12-2022*).

Διαδικασίες ορισμού ορίων ευαισθησίας / αντοχής νέων αντιμικροβιακών και αναθεώρησης αυτών

Ο **ορισμός των ορίων ευαισθησίας των νέων αντιμικροβιακών** είναι μια διαδικασία, η οποία διεξάγεται μεταξύ τριών εταιρών: της EUCAST, της EMA / CHMP (EMA Committee for Medicinal Products for Human Use), και της αντίστοιχης φαρμακευτικής εταιρείας. Θέση - κλειδί στην όλη διαδικασία έχει η Οργανωτική Επιτροπή. Η όλη διαδικασία περιγράφεται αναλυτικά στο κείμενο *"Setting breakpoints for new antimicrobial agents, SOP v.1.4/02-12-2021"* και είναι εμπιστευτική.

Μέσω του καθορισμού των ορίων ευαισθησίας, η EUCAST συμμετέχει στην επίσημη διαδικασία της EMA αναφορικά με την έγκριση και κυκλοφορία νέων αντιμικροβιακών στην Ευρώπη, κατά την οποία συνεργάζονται Φαρμακοβιομηχανία, EMA και EUCAST (*EMA SOP/H/3043*). Η διαδικασία ορισμού των ζωνών αναστολής, των συγκεκριμένων συγκεντρώσεων των δισκίων και των QC κριτηρίων για τους νέους αντιμικροβιακούς παράγοντες περιγράφεται στο έγγραφο *"Procedure for establishing zone diameter breakpoints and quality control criteria for new antimicrobial agents, SOP v.9.2 /13-07-2020"*.

Για την **εναρμόνιση των υπαρχόντων ορίων ευαισθησίας** μεταξύ των Εθνικών Επιτροπών και την **αναθεώρηση** αυτών, όταν προκύπτουν αλλαγές ως προς τις κλινικές ενδείξεις, το μικροβιολογικό φάσμα, τους μηχανισμούς αντοχής, τα δοσολογικά σχήματα και τη

μορφή του αντιμικροβιακού (ενέσιμο / per os), επιδιώκεται συναίνεση μέσω διαλόγου και συσκέψεων της Οργανωτικής Επιτροπής με τις Εθνικές Επιτροπές. Στη συνέχεια ακολουθεί διαβούλευση των προσωρινών ορίων (**tentative**) με τη Γενική Επιτροπή, τα “email networks” και ευρύτερα μέσω του ιστότοπου της EUCAST. Τέλος, με τη διαδικασία της συναίνεσης εγκρίνονται τα **τελικά όρια (final)**. Η διαδικασία περιγράφεται αναλυτικά στο κείμενο “*Harmonization breakpoints for existing antimicrobial agents, SOP v.2.4/02-12-2021* και στο *Review and Revisions of breakpoints SOP v.3.3/29-07-2020*”.

Η δημοσίευση των τελικών ορίων στον ιστότοπο συνοδεύεται από ένα σχετικό έγγραφο / δικαιολογητικό (*Rationale EUCAST document*), το οποίο αναφέρει όλα τα απαραίτητα στοιχεία για το αντιμικροβιακό (σύνθεση, αντιμικροβιακό φάσμα, κλινικές ενδείξεις, δοσολογικό σχήμα, κατανομές MICs, εθνικά όρια ευαισθησίας πριν την εναρμόνιση, PK/PD χαρακτηριστικά, προσομοιώσεις Monte Carlo – PK/PD και κλινικά δεδομένα). Αν μια NAC διαφωνεί με τα καθορισμένα όρια, στο ίδιο έγγραφο αναφέρεται και το σκεπτικό της διαφωνίας της.

Περιήγηση στον Ιστότοπο της EUCAST

Στον ιστότοπο της EUCAST, μπορεί κανείς να βρει δωρεάν, **όλα τα κλινικά όρια ευαισθησίας και αντοχής** υπό μορφή πινάκων, σε μορφή pdf, αλλά και excel, για να διαμορφώσει το κάθε εργαστήριο τους πίνακες του, ανάλογα με τα αντιμικροβιακά που χρησιμοποιεί (*The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters, v. 12.0, 2022*). Επίσης, πίνακες προσαρμοσμένοι στην ελληνική πραγματικότητα και μεταφρασμένοι στα ελληνικά αναρτώνται στον ιστότοπο της Εταιρείας Κλινικής Μικροβιολογίας και Εργαστηριακής Διαγνωστικής, ΕΚΜΕΔ (<http://www.ekmed.gr>).

Οι πίνακες του 2022 αναφέρονται σε: *Enterobacterales, Pseudomonas spp., Stenotrophomonas maltophilia, Acinetobacter spp., Staphylococcus spp., Enterococcus spp., Streptococcus groups A,B,C,G, Streptococcus pneumoniae, viridans group streptococci, Haemophilus influenzae, Moraxella catarrhalis, Neisseria gonorrhoeae, Neisseria meningitidis, anaerobic bacteria, Helicobacter pylori, Listeria monocytogenes, Pasteurella multocida, Campylobacter jejuni and coli, Corynebacterium spp, Aerococcus sanguinicola and urinae, Kingella kingae, Aeromonas spp, Achromobacter xylosoxidans, Vibrio spp, Bacillus spp, Burkholderia pseudomallei, Burkholderia cepacia complex, Legionella pneumophila, Mycobacterium tuberculosis*, τοπικά αντιμικροβιακά και PK-PD breakpoints.

Σημειωτέον ότι η τάξη των *Enterobacterales* περιλαμβάνει τις παρακάτω οικογένειες: *Enterobacteriaceae, Erwinaceae, Peptobacteriaceae, Yersiniaceae, Hafniaceae, Morganellaceae, και Budvicaceae* (*Int J Syst Evol Microbiol. 2016;66:5575-99*).

Όταν δεν υπάρχουν κλινικά όρια προτείνεται η αξιοποίηση των ECOFFs και των PK-PD ορίων (*Guidance Document / When there are no breakpoints in the EUCAST tables, updated 01-12-2022*).

Αντίστοιχοι επικαιροποιημένοι πίνακες υπάρχουν για τους **μύκητες**:

- Overview of antifungal ECOFFs and clinical breakpoints for yeasts, moulds and dermatophytes v 3.0 (18-1-2022)
- QC AFST Tables v 4.0 (04-02-2020)
- Rational documents for antifungal agents (2020, 2021)

Οι **συμβολισμοί** που υπάρχουν στους πίνακες των ορίων ευαισθησίας επεξηγούνται αναλυτικά στον οδηγό ανάγνωσης **“Guidance on reading EUCAST breakpoint Tables”**. Ό,τι γράφεται με κίτρινο χρώμα, σημαίνει “αλλαγή”, τα νέα ή αναθεωρημένα σχόλια υπογραμμίζονται, ενώ τα σχόλια που δεν ισχύουν πλέον εμφανίζονται ως διαγραμμένα. Αναφορικά με τα πεδία που εμφανίζονται σε μπλε χρώμα, με πίεση του αντίστοιχου πεδίου εμφανίζεται και το σχετικό έγγραφο.

Άλλοι συμβολισμοί είναι οι παρακάτω:

- “-”: το μικρόβιο δεν αποτελεί καλό στόχο για το αντιμικροβιακό, γι’ αυτό, το τελευταίο θεωρείται αναποτελεσματικό για κλινική χρήση, πχ αζτρεονάμη / εντερόκοκκος. Επομένως δεν συνιστάται έλεγχος ευαισθησίας.
 - “NA”: non applicable, μη εφαρμόσιμο, πχ screening με ναλιδιξικό στον εντερόκοκκο για τις φθοριοκινολόνες.
 - “IP”: in preparation, σε προετοιμασία, πχ κεφποντοξίμη / *Moraxella catarrhalis*.
 - “IE”: insufficient evidence, δεν υπάρχουν επαρκή αποδεικτικά στοιχεία ότι ο μικροοργανισμός αποτελεί καλό στόχο για το υπό εξέταση αντιμικροβιακό, πχ νετιλμικίνη / *Enterobacterales*, νταλμπαβανσίνη και τελαβανσίνη / *Enterococcus* spp. Μπορεί να αναφερθεί η MIC χωρίς κατηγοριοποίηση.
 - “S ≥ 50 mm” ή “≤ 0.001 mg/L”: πρακτικά σημαίνει ότι δεν υπάρχουν ευαίσθητα στελέχη, δηλαδή, ακόμη και τα WT στελέχη είναι “ευαίσθητα, σε αυξημένη έκθεση” (I), πχ σιπροφλοξασίνη, λεβοφλοξασίνη / *Pseudomonas* spp.
 - “()”: χρησιμοποιείται για να διαχωριστούν τα στελέχη σε εκείνα “με” και εκείνα “χωρίς” επίκτητο μηχανισμό αντοχής. Τα όρια ευαισθησίας σε παρένθεση βασίζονται σε επιδημιολογικά όρια, “ECOFF values”. Τα συγκεκριμένα αντιμικροβιακά πρέπει να συνδυάζονται με κάποιο άλλο θεραπευτικό μέσο, και να μην χρησιμοποιούνται ποτέ ως μονοθεραπεία.
 - “Screen test”: χρησιμοποιείται ένας αντιμικροβιακός παράγοντας (σε μεθοδολογία MIC ή δίσκου) για να ανιχνεύσει ή να αποκλείσει μηχανισμούς αντοχής. Προβλέπει την ευαισθησία του μικροοργανισμού σε ένα ή περισσότερους παράγοντες της ίδιας τάξης (*EUCAST Guidance Document / Phenotypic screening tests to detect and exclude resistance mechanisms of clinical relevance, 22-02-2022*).
- Τέλος, η EUCAST προτείνει το ερμηνευτικό διάβασμα του αντιβιογράμματος με βάση τη:
- **Χρήση των ερμηνευτικών κανόνων (Expert rules)**, όλα τα σχετικά έγγραφα αναθεωρήθηκαν το 2019 και αντίστοιχα σχόλια ενσωματώθηκαν στους Πίνακες των κλινικών ορίων από το 2020.
 - **Γνώση της φυσικής αντοχής και αναγνώριση των ασυνήθων φαινοτύπων αντοχής**, (*EUCAST advice on intrinsic resistance and unusual phenotypes v 3.3, 04.01.2022*).