



Implementing EUCAST Standards: From Guidelines to Daily Laboratory Practice

Dr Ippokratis Messaritakis

Med. Microbiologist, MSc, PhD

Dir. Microbiology Dept



ΧΗΜΕΙΟ ΓΙΑΝΝΟΥΚΑ
ΟΜΙΛΟΣ ΒΙΟΙΑΤΡΙΚΗ



**German
Medical
Institute**



**European
University Cyprus**

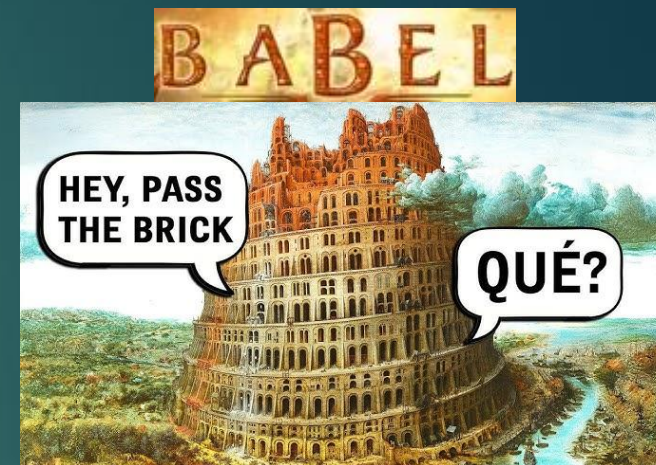
- 
- ▶ EUCAST
 - ▶ Ερμηνεία Αντιβιογραμμάτων
 - ▶ Bench to Bedside Story

Διεθνείς οργανισμοί

- ❖ Καθορίζουν breakpoints και μεθόδους
- ❖ Διασφαλίζουν ότι τα αποτελέσματα AST είναι αξιόπιστα

Στόχος:

ασφαλής και αποτελεσματική αντιμικροβιακή θεραπεία





Ομοιότητες

Παράμετρος	EUCAST	CLSI
Τεχνικές	Διάχυση Δισκίων, MIC, QC	Διάχυση Δισκίων, MIC, QC
Στόχος	Ορθή ερμηνεία ευαισθησίας	Ορθή ερμηνεία ευαισθησίας
Ενημέρωση	Ετήσιες αναθεωρήσεις	Ετήσιες αναθεωρήσεις

EUCAST vs CLSI

Διαφορές

Παράμετρος	EUCAST	CLSI
Breakpoints	Συχνά πιο αυστηρά (χαμηλότερα)	Συνήθως υψηλότερα όρια
Κατηγορίες	S – I – R (I = "Susceptible, Increased exposure")	S – I – R – SDD (I = "Intermediate")
Πρόσβαση	Ελεύθερη, online	Πλήρης πρόσβαση με συνδρομή
Επικέντρωση	Ευρωπαϊκή επιδημιολογία	Αμερικάνικη επιδημιολογία

- ▶ Ίδρυση: 1997 από το ESCMID (European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases)
- ▶ Αναδιάρθρωση: 2001/2002 με υφιστάμενες εθνικές επιτροπές για εναρμόνιση μεθόδων και ορίων σε όλη την Ευρώπη
- ▶ Χρηματοδοτείται από ECDC, ESCMID, Εθνικές Ευρωπαϊκές Επιτροπές (Γερμανία, Γαλλία, Νορβηγία, Ολλανδία, Σουηδία και Ηνωμένο Βασίλειο)
- ▶ Οι κατευθυντήριες είναι το αποτέλεσμα συνεργασίας
 - μικροβιολόγων,
 - φαρμακοδυναμικών,
 - λοιμωξιολόγων



EUCAST

EUROPEAN COMMITTEE
ON ANTIMICROBIAL
SUSCEPTIBILITY TESTING

European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases

“γιατί”

- Γιατί έχει σημασία να ακολουθούμε τα πρότυπα του EUCAST με ακρίβεια;

ενιαία, αξιόπιστη και σύγχρονη ερμηνεία των αντιμικροβιακών αποτελεσμάτων

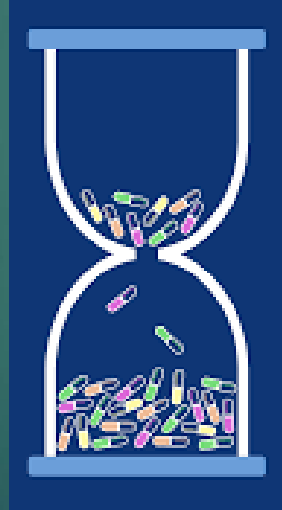
- Γιατί έχει σημασία η ομοιομορφία στην ερμηνεία αποτελεσμάτων μεταξύ νοσοκομείων και χωρών;

ενιαία, αξιόπιστη και σύγχρονη ερμηνεία των αντιμικροβιακών αποτελεσμάτων

- Γιατί η αντιμικροβιακή αντοχή θεωρείται σήμερα μια από τις μεγαλύτερες απειλές για τη δημόσια υγεία παγκοσμίως;



Αντιμικροβιακή αντοχή
αυξάνεται



Διαθέσιμα αντιβιοτικά
μειώνονται



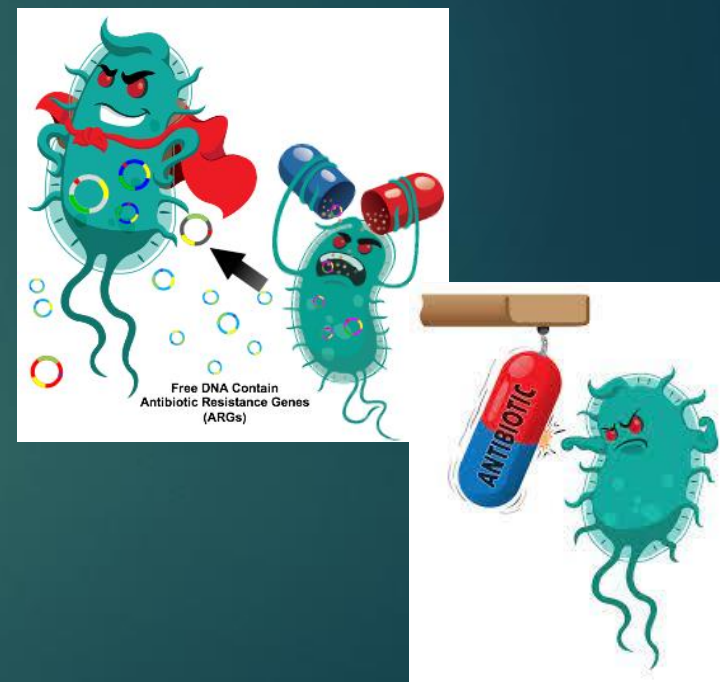
Διαθέσιμες επιλογές
στενεύουν

Αντιμικροβιακή Αντοχή (AMR)

- ▶ Η ικανότητα ενός μικροοργανισμού να επιβιώνει παρουσία ενός αντιμικροβιακού παράγοντα

Διαδικασία που επιταχύνεται λόγω:

- Λανθασμένης χρήσης → λάθος φάρμακο/δόση/διάρκεια
- Αλόγιστης χρήσης → χωρίς ένδειξη
- Υπέρμετρης χρήσης → υπερβολικά πολλά/συχνά/ευρέος φάσματος



European Surveillance of Antimicrobial Consumption Network

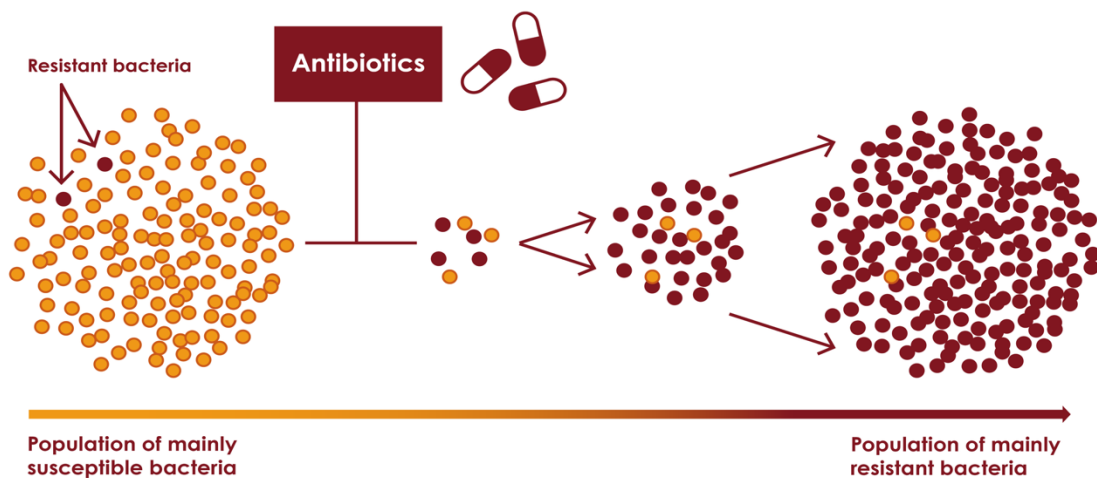
Κατανάλωση Αντιβιοτικών ESAC-Net 2024

Table 7. Percentage (%) of glycopeptides, third- and fourth-generation cephalosporins, monobactams, carbapenems, fluoroquinolones, polymyxins, piperacillin and enzyme inhibitor, linezolid, tedizolid and daptomycin out of total hospital sector consumption (DDD per 1 000 inhabitants per day) of antibacterials for systemic use, EU/EEA countries, 2020–2024

Country	2020	2021	2022	2023	2024	Trend 2020–2024	
Austria	34.8	36.5	35.3	35.1	34.7		
Belgium	31.4	31.2	30.5	30.4	28.4		↓
Bulgaria	62.6	71.1	67.5	65.0	63.9		
Croatia	36.8	39.5	38.9	39.3	40.3		
Cyprus					59.4		NA
Czechia ^a		18.1	15.9	14.2	22.3		NA
Denmark ^b	24.7	24.3	22.7	22.6	21.8		NA
Estonia	24.6	24.8	23.2	23.7	24.3		
Finland	21.4	19.5	18.6	19.2	18.3		
France	32.4	33.4	36.3	32.1	32.4		
Germany				39.6	38.9		NA
Greece	50.8	59.8	57.9	57.8	61.0		
Hungary	40.8	42.4	39.7	42.1	41.8		
Iceland	18.7	21.3	29.3	30.3	29.4		↑
Ireland	30.3	31.1	30.3	30.9	32.5		
Italy	42.8	44.4	46.2	44.6	43.1		
Latvia	36.9	41.9	40.6	42.0	38.1		
Lithuania	24.8	22.0	17.6	18.4	19.8		
Luxembourg ^a	37.9	37.5	35.1	35.8	35.8		NA
Malta	38.6	41.2	39.2	42.4	37.6		
Netherlands	26.8	28.7	27.4	26.8	27.5		
Norway	19.5	21.7	21.8	20.9	20.3		
Poland	34.3	44.1	37.9	39.8	39.6		
Portugal	43.3	44.2	42.6	43.7	43.4		
Romania	55.1	64.8	61.5	60.1	58.6		
Slovakia	35.1	38.6	33.7	36.7	35.0		
Slovenia	31.3	32.2	31.2	30.0	29.6		
Spain	47.9	50.3	50.2	51.0	51.2		↑
Sweden	28.6	30.4					NA
EU/EEA ^c	38.2	41.1	40.5	39.6	39.6		

Ανάπτυξη AMR

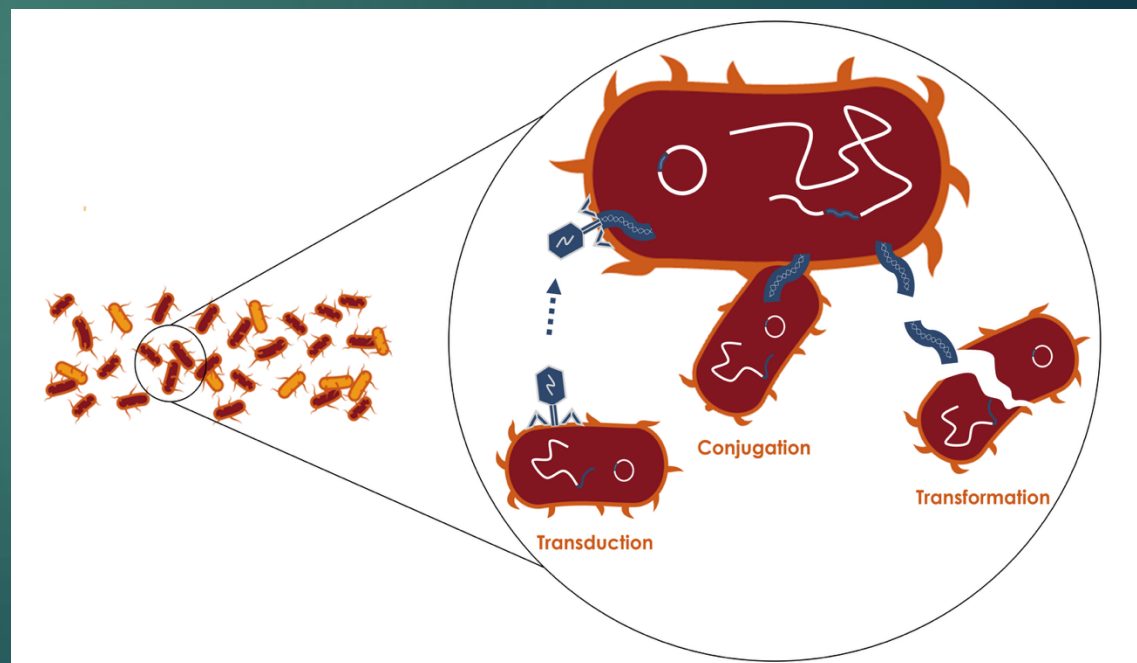
Natural selection of resistant bacteria



reactgroup.org/toolbox/understand/antibiotic-resistance/mutation-and-selection/

Αναπτύσσεται κυρίως μέσω:

- γενετικών μεταλλάξεων
- απόκτησης γονιδίων αντοχής από άλλα βακτήρια



reactgroup.org/antibiotic-resistance/transfer-of-antibiotic-resistance/

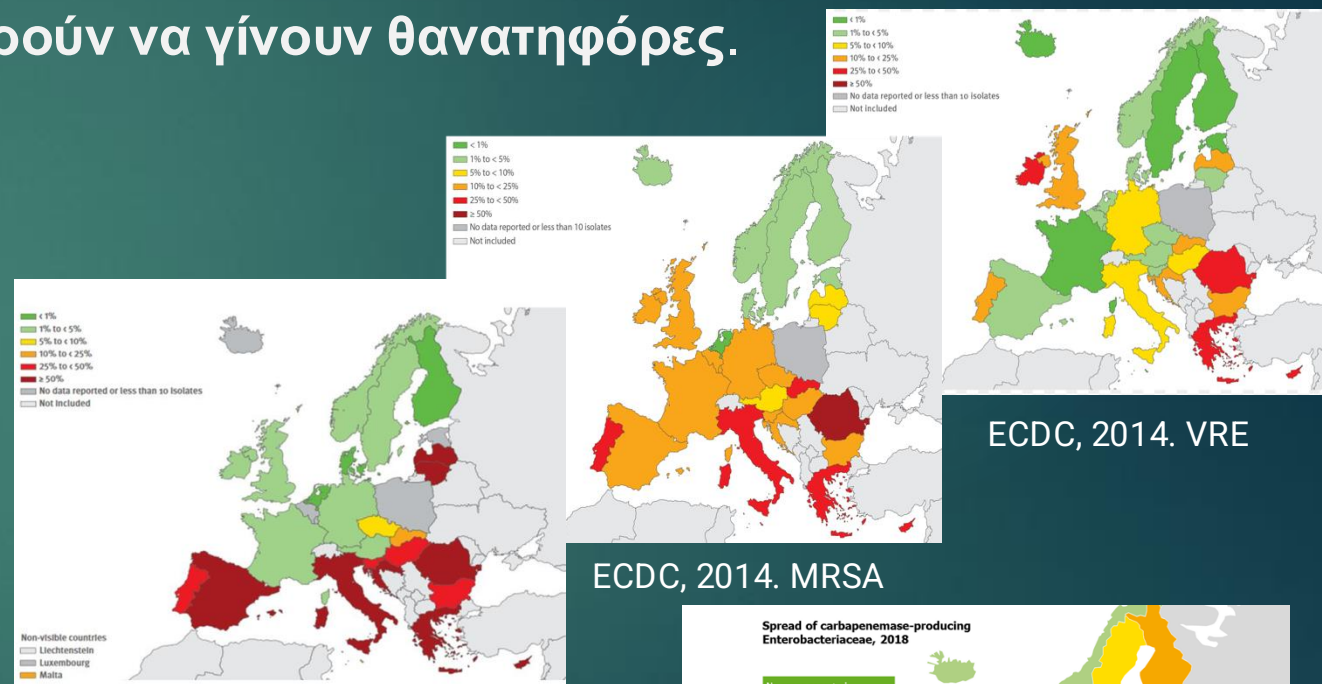
AMR: Γιατί έχει σημασία σήμερα;

Η αντοχή στα αντιβιοτικά εξελίσσεται πιο γρήγορα από την ανάπτυξη νέων αντιβιοτικών.

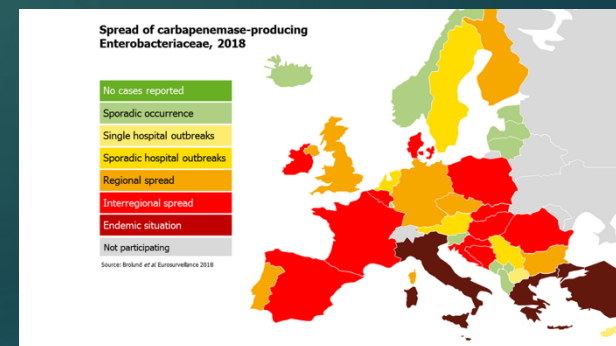
Μπαίνουμε σε εποχή όπου απλές λοιμώξεις μπορούν να γίνουν θανατηφόρες.

Στοιχεία Ευρώπης:

- 35.000 θάνατοι/έτος λόγω AMR (ECDC 2022)
- Ελλάδα και Κύπρος --> Πρωταγωνιστές
- Σημαντικό οικονομικό και κοινωνικό κόστος
 - Παρατεταμένες νοσηλείες
 - Κόστος περίθαλψης
 - Ανάγκη για τοξικές/ακριβές θεραπείες
 - Υψηλότερη θνησιμότητα



ECDC, 2014. Acinetobacter spp.



ECDC, 2018. Enterobacteriaceae

Third-generation cephalosporin-resistant *Escherichia coli* bloodstream infections,

Country ^a	Estimated incidence ^b (n per 100 000 population)						Trend 2019–2024 ^d
	2019	2020	2021	2022	2023	2024	
Latvia	5.03#	5.30#	4.23#	5.75#	6.96#	10.98#	↑
Germany	12.02#	10.74#	9.07#	9.15#	9.75#	11.98	-
Spain	7.84#	6.40#	6.65#	10.02#	11.16#	12.45#	↑
Portugal	10.32	8.38	7.36	7.76	10.73	13.08	-
Belgium	13.19#	10.29	7.84	8.07#	10.14#	13.39#	
Cyprus	6.2	5.11	9.37	10.76	15.23	19.56	
Italy	22.96	17.67	14.77	17.29	19.56	22.19	
Malta	12.37	6.96	8.36	7.48	9.13	22.79	
EU	10.42	8.38	7.32	8.26	9.43	11.03	
EU/EEA	10.35	8.33	7.28	8.21	9.37	10.96	

Meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)^a bloodstream infections,

Country ^b	Estimated incidence ^c (n per 100 000 population)						Trend 2019–2024 ^e
	2019	2020	2021	2022	2023	2024	
Hungary	4.15	3.61	5.20	4.97	4.85	4.42	-
Croatia	2.73	3.82	5.18	5.44	6.35	5.03	↑
Greece	4.59#	5.60#	5.44#	4.96	6.51	5.54	NA
Liechtenstein	ND	ND	ND	6.36#	0.00#	6.25#	NA
Portugal	11.39	9.80	7.23	8.81	7.39	8.22	↓
Italy	13.42	13.07	10.28	11.70	10.18	10.54	↓
Romania	13.72#	9.03#	8.95#	9.37#	11.99#	13.15#	-
Cyprus	6.85	7.81	11.31	14.59	15.50	13.63	↑
EU	5.63	4.73	4.26	4.44	4.37	4.48	↓
EU/EEA	5.57	4.68	4.21	4.39	4.32	4.43	↓

Carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infections,

Country ^a	Estimated incidence ^b (n per 100 000 population)						Trend 2019–2024 ^d
	2019	2020	2021	2022	2023	2024	
Portugal	2.93	3.22	2.92	3.01	4.19	4.22	↑
Croatia	1.20	1.57	2.87	2.52	4.53	4.49	↑
Poland	1.38#	1.45#	3.69#	3.30#	3.69#	5.15#	↑
Italy	8.43	8.73	6.99	7.77	9.29	9.29	-
Bulgaria	2.24#	2.19#	3.52#	3.91#	7.75#	10.62#	↑
Greece	13.05#	14.96#	23.30#	18.02	21.44	14.89	NA
Cyprus	2.61	2.55	5.51	9.87	9.80	19.81	↑
Romania	7.12#	10.77#	13.87#	12.12#	20.02#	20.31#	↑
EU	2.18	2.37	2.72	2.66	3.39	3.51	↑
EU/EEA	2.15	2.34	2.69	2.62	3.35	3.46	↑

11.7

billion EUR

This is the annual cost of antimicrobial resistance in the EU and European Economic Area (EEA)

Most of the costs are caused by:



Longer treatment

6.6 billion EUR of the total cost is extra health expenditure from treating resistant infections and their consequences



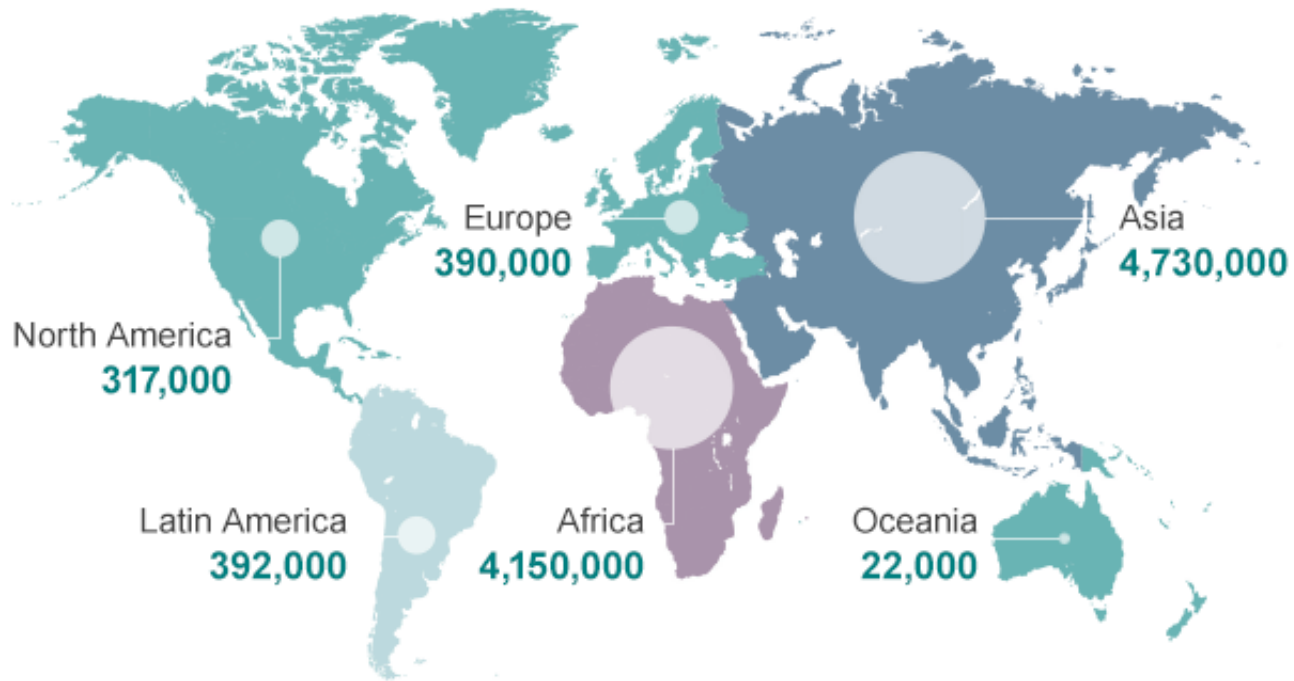
Reduced workforce participation

5.1 billion EUR is economic losses due to reduced participation in the workforce (e.g. premature loss of life or reduced productivity due to long sick leaves)¹

¹ Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD). Fighting antimicrobial resistance in the EU/EEA. Embracing a One Health approach. Paris: OECD; 2023. Available at: <https://bit.ly/3SHclpx>

AMR

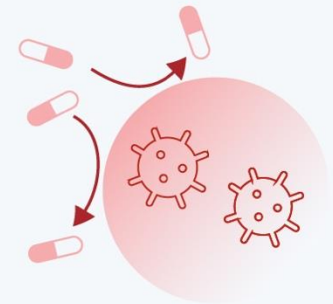
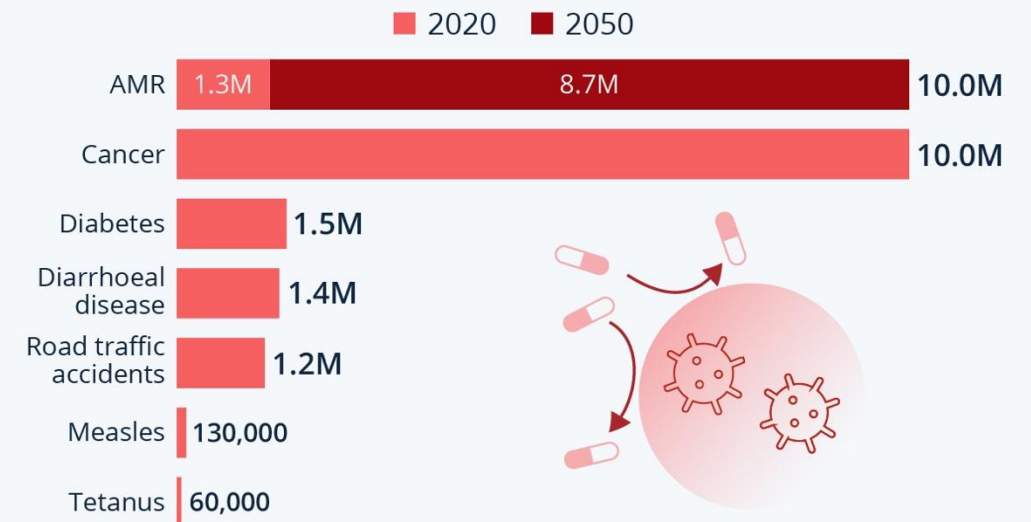
Deaths attributable to antimicrobial resistance every year by 2050



Source: Review on Antimicrobial Resistance 2014

Deaths From Drug-Resistant Infections Set To Skyrocket

Predicted mortality from antimicrobial-resistant* infections (AMR) versus today's common causes of deaths



* resistant to antibiotics, antivirals, antifungals and antiparasitics

Source: Bracing for Superbugs 2023 (UN Environmental Programme)



AMR

- ▶ Το πρόβλημα είναι και εργαστηριακό.

Η μικροβιολογία δεν παράγει “νούμερα”. Συμβάλλουμε στην **κλινική απόφαση**.

- ▶ Η ανίχνευση αντοχής είναι ζωτικής σημασίας για τη σωστή επιλογή αντιβιοτικής αγωγής.
- ▶ Ένα **λανθασμένο ή καθυστερημένο αποτέλεσμα** μπορεί να έχει σοβαρές συνέπειες για τον ασθενή

Η σωστή εφαρμογή του EUCAST:

- δεν είναι επιλογή
- δεν είναι “γραφειοκρατία”
- δεν είναι απλή τεχνική δεξιότητα

Είναι **υψηλής ευθύνης κλινική διαδικασία** που επηρεάζει άμεσα τον ασθενή.

Κάθε αναθεώρηση επηρεάζει το « **from Bench to Bedside** »

Ένα στέλεχος που παλαιότερα ήταν «**S**» σήμερα είναι «**I**» ή «**R**» επειδή η γνώση σχετικά με τη PK/PD και την κλινική αποτελεσματικότητα του αντιβιοτικού έχει εξελιχθεί.



EUCAST στην Ελλάδα & Κύπρο: Πραγματικότητα & Προκλήσεις

- ▶ Πολλά εργαστήρια/νοσοκομεία εφαρμόζουν ήδη EUCAST
- ▶ Ωστόσο, παραμένουν προκλήσεις:
 - Ελλείψεις προσωπικού & διαφοροποίηση μεταξύ εργαστηρίων
 - Περιορισμένη εκπαίδευση σε εξελιγμένες τεχνικές αντιβιογραμμάτων
 - Δυσκολίες ενημέρωσης κλινικών ιατρών για τα νέα breakpoints
- ▶ Η εκπαίδευση αφορά τόσο τεχνική εφαρμογή όσο και κατανόηση της φιλοσοφίας EUCAST.
- ▶ Η γέφυρα μεταξύ του αποτελέσματος και της πραγματικής θεραπείας



- ▶ Βασικό Χαρακτηριστικό: Συνεχής Εξέλιξη
- ▶ Τα breakpoints αναθεωρούνται σε ετήσια βάση, λαμβάνοντας υπόψη:
 - τα πιο πρόσφατα δεδομένα σχετικά με την **PK/PD** των φαρμάκων,
 - τα επιδημιολογικά δεδομένα MIC,
 - τα αποτελέσματα από την κλινική πράξη.
- ▶ Συνεπώς, EUCAST **δεν είναι στατικό**, αλλά ζωντανό εργαλείο
- ▶ Απαιτεί **ορθή εκπαίδευση και διαρκή ανανέωση γνώσεων** καθώς οι αλλαγές στις οδηγίες είναι συνεχείς

Κατηγορίες Ευαισθησίας – S/R/I

▶ S: Susceptible, Ευαίσθητο



▶ R: Resistant, Ανθεκτικό



▶ I: Intermediate, Ενδιάμεση αντοχή



Κατηγορίες Ευαισθησίας – S/R/I

- ▶ **S (Susceptible, Ευαίσθητο)** → πολύ πιθανό η θεραπεία να είναι αποτελεσματική με την συνήθη δοσολογία. Δεν σημαίνει απλώς «ευαίσθητο στο εργαστήριο»,
- ▶ **R (Resistant, Ανθεκτικό)** → πολύ απίθανο να επιτευχθεί αντιμετώπιση με το συγκεκριμένο φάρμακο, ακόμη και αν χρησιμοποιηθούν υψηλές δόσεις ή εναλλακτικά σχήματα.
- ▶ **I (Susceptible, Increased exposure / Ευαίσθητο με αυξημένη έκθεση):** → η θεραπεία μπορεί να είναι επιτυχής, **εφόσον επιτευχθεί μεγαλύτερη έκθεση του μικροοργανισμού στο φάρμακο.** Απαιτούν πιο στοχευμένη χρήση του αντιβιοτικού.

Χρειάστηκε συνεχής εκπαίδευση ιατρών και τεχνολόγων για να γίνει σωστή κλινική χρήση αυτής της πληροφορίας

EUCAST: Από το Εργαστήριο στην Κλινική Πράξη

Case Note:

- ▶ *Pseudomonas aeruginosa* σε τραχειοβρογχική αναρρόφηση σε ΜΕΘ,
- ▶ MIC=16 mg/L για Piperacillin/Tazobactam:
- ▶ • Παλαιό breakpoint (2019)→ “S”
- ▶ • Νέο breakpoint → “Susceptible, increased exposure”

Αλλάζει θεραπευτική στρατηγική (dose optimization ή άλλη οδός)

- ▶ Η συνεργασία εργαστηρίου και κλινικών είναι απαραίτητη.
- ▶ Ο εργαστηριακός θα πρέπει να γνωρίζει τι παράγει
- ▶ Ο κλινικός γιατρός θα πρέπει να γνωρίζει πώς να το ερμηνεύσει και να το αξιοποιήσει

Breakpoints

- ▶ **Breakpoint** είναι η «τιμή» που χωρίζει ένα ευαίσθητο από ένα ανθεκτικό στέλεχος.
- ▶ Καθορίζονται με βάση:
 - τα PK/PD χαρακτηριστικά του φαρμάκου,
 - την κατανομή των MIC τιμών στον πληθυσμό των άγριων στελεχών,
 - τα επίπεδα αντοχής που σχετίζονται με γνωστούς μηχανισμούς,
 - και τα κλινικά αποτελέσματα της θεραπείας.
- ▶ Χωρίζονται σε:
 - **Κλινικά breakpoints** (καθορίζουν την κατηγορία S/SIE/R)
 - **ECOFFs** (epidemiological cut-off) (διαχωρίζουν τα wild-type στελέχη από τα ανθεκτικά).
 - Χρήσιμα σε επιδημιολογική παρακολούθηση αντοχής και στον εντοπισμό αναδυόμενης αντοχής

Πρότυπες Μέθοδοι Αντιβιογραμμάτων (AST)

- ▶ Για τη σωστή εφαρμογή breakpoints
 - disk diffusion,
 - Etest,
 - broth microdilution,
 - αυτοματοποιημένα συστήματα (πχ Vitek).

Τεχνικές λεπτομέρειες που θα πρέπει να λαμβάνονται υπόψιν, ώστε το αποτέλεσμα να είναι αξιόπιστο και συγκρίσιμο :

- τύπος άγαρ,
- πάχος,
- θερμοκρασία επώασης,
- χρόνος επώασης,
- πυκνότητα εναιωρήματος,
- έλεγχος ποιότητας

Αντιβιόγραμμα

- ▶ Δεν είναι μια μηχανική διαδικασία. → “βάζω δίσκους - διαβάζω ζώνες - βάζω τιμές”.
- ▶ Σημεία στα οποία μπορεί να υπάρξει λάθος:
 - λάθος πυκνότητα εναιωρήματος,
 - λάθος χρόνος επώασης
 - λάθος θερμοκρασία
 - μολυσμένο saline ή dispenser,
 - λάθος τοποθέτηση δίσκων
- ▶ Ένα μικρό τεχνικό λάθος μπορεί να οδηγήσει σε **τελείως λάθος κατηγοριοποίηση**, με άμεση συνέπεια την **λανθασμένη κλινική αντιμετώπιση**

Μέθοδοι AST

η επιτυχία του AST εξαρτάται λιγότερο από τη μέθοδο και
περισσότερο από την ακρίβεια του χρήστη

Kirby Bauer – Μέθοδος Διάχυσης Δισκίων

- ▶ **Developers:** 1950s by W. M. M. Kirby and A. W. Bauer
- ▶ **Standardization:** 1961 by WHO (gold standard) for AST
- ▶ Είναι απλή, αξιόπιστη και οικονομική, εφόσον εφαρμόζεται σωστά

1. Παρασκευή του εναιωρήματος σε πυκνότητα **0.5 McFarland**. - **Κρίσιμο σημείο ελέγχου ποιότητας**
 - Αν το εναιώρημα είναι πιο πυκνό → ψευδώς ανθεκτικό αποτέλεσμα.
 - Αν είναι πιο αραιό → ψευδώς ευαίσθητο αποτέλεσμα.
2. Επάλειψη σε **Mueller-Hinton agar** – **3 κατευθύνσεων (εντός 15 λεπτών)**
3. Τοποθέτηση των δισκίων (**εντός 15 λεπτών**) και σε σωστή απόσταση (≥ 24 mm μεταξύ τους – με εξαιρέσεις).
4. Επώαση (**εντός 15 λεπτών**) για **16–20 ώρες**.





If cultures are pure, colonies within zones should be taken into account when measuring the diameter.

Penicillins	Disk content (µg)	Zone diameter breakpoints (mm)		
		S >	R <	ATU
Amoxicillin-clavulanic acid iv ¹	20-10	19 ^A	19 ^A	19-20
Amoxicillin-clavulanic acid oral (infections originating from the urinary tract) ¹	20-10	50 ^A	19 ^A	19-20
Amoxicillin-clavulanic acid oral (uncomplicated UTI only) ¹	20-10	16 ^A	16 ^A	
Amoxicillin-clavulanic acid oral (other indications) ¹	20-10	(19) ^{A,D}	(19) ^{A,D}	19-20

Cephalosporins ¹	Disk content (µg)	Zone diameter breakpoints (mm)		
		S ≥	R <	ATU
Cefuroxime iv, <i>E. coli</i> , <i>Klebsiella</i> spp. (except <i>K. aerogenes</i>), <i>Raoultella</i> spp. and <i>P. mirabilis</i>	30	50	19	
Cefuroxime oral (uncomplicated UTI only), <i>E. coli</i> , <i>Klebsiella</i> spp. (except <i>K. aerogenes</i>), <i>Raoultella</i> spp. and <i>P. mirabilis</i>	30	19	19	

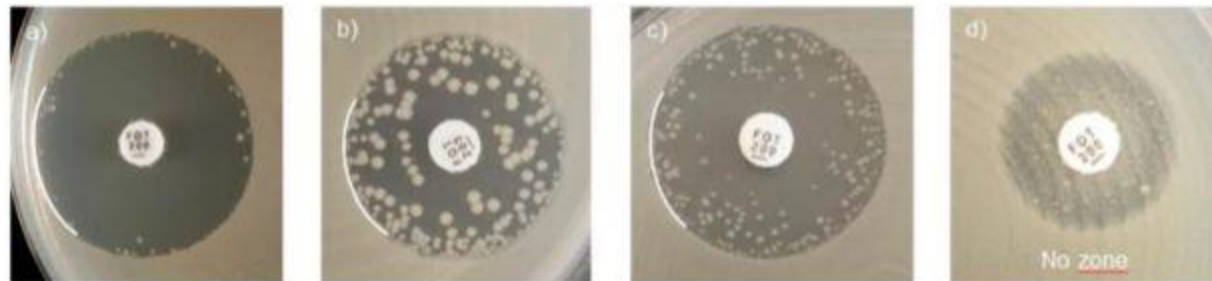
Carbapenems	Disk content (µg)	Zone diameter breakpoints (mm)		
		S ≥	R <	ATU
Meropenem (indications other than meningitis), <i>P. aeruginosa</i>	10	20	14	
Meropenem (indications other than meningitis), <i>Pseudomonas</i> other than <i>P. aeruginosa</i>	10	24	18	
Meropenem (meningitis), <i>P. aeruginosa</i>	10	20	20	



«Πόσοι από εσάς έχετε βρει κάποια φορά ζώνη με
δορυφόρους αποικίες και αναρωτηθήκατε τι να γράψετε;»

Αν η εικόνα είναι αμφίβολη,

- επαναλαμβάνουμε τη δοκιμή, ή
- επιβεβαιώνουμε με εναλλακτική μέθοδο, ή
- ελέγχουμε τους δορυφόρους



Examples of inhibition zones for *Escherichia coli* with fosfomycin IV.

a - c) Ignore all colonies and read the outer zone edge.

d) Record as no inhibition zone.