

EUCAST en wat eraan voorafging

John Degener

Samenvatting

Ruim een halve eeuw bestaat discussie over eisen waaraan een in-vitro antimicrobiële gevoeligheidstest moet voldoen. Verschillende instanties hebben kritische grenswaarden vastgesteld voor de gevoeligheid van bacteriën voor antibiotica. Gedurende de afgelopen decennia is een fijnmazig systeem ontstaan voor het testen van de tientallen verschillende antibiotica voor vele soorten klinisch relevante bacteriën bij een verscheidenheid aan indicaties. Aanvankelijk hielden vooral nationale werkgroepen en commissies zich in Europa en in de Verenigde Staten met deze materie bezig. In Nederland publiceerde vanaf 1972 de Werkgroep Richtlijnen Gevoeligheidsbepalingen (WRG), later gewijzigd in de Commissie Richtlijnen Gevoeligheidsbepalingen (CRG), adviezen en richtlijnen. De methodiek en de materialen verschillen binnen Europa, hetgeen een vergelijking van resultaten bemoeilijkt. Toenemende resistentieproblematiek, die zich niet houdt aan nationale grenzen, vormt de noodzaak om op internationaal niveau te harmoniseren. Dit heeft geleid tot het ontstaan van de European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). Het doel van EUCAST is draagvlak verkrijgen voor internationale standaardisatie van methode en interpretatie van testresultaten. Dit is in het belang van de patiënt maar ook voor inzicht in de epidemiologie van resistentie. Samenwerking wordt nagestreefd met instanties voor richtlijnontwikkeling buiten Europa, met name met het Amerikaanse systeem.

Abstract

The requirements to be met for antimicrobial susceptibility testing have been discussed since more than half a century. Several institutions define critical susceptibility limits for antibiotics. The past decades a detailed system has been created for tests and interpretive test results with tens of antimicrobial drugs, different bacterial species and for a number of medical

indications.

National working groups and committees engaged themselves in this matter in Europe and in the United States. These organizations started to publish guidelines and recommendations. In the Netherlands the Working Group Guidelines Susceptibility Testing (Werkgroep Richtlijnen Gevoeligheidsbepalingen WRG), later called Committee Guidelines Susceptibility Testing (CRG), was established in 1972. The various national organizations differ in their approach, thus hampering comparison of results. Increasing antimicrobial resistance, which does not respect national borders, necessitated harmonization of interpretive tests. This has led to a new initiative, the European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) in 1995. EUCAST aims at European support for the implementation of its recommendations. The importance of this initiative is in the interest of the individual patient as well as for the understanding of epidemiological developments. A closer cooperation of EUCAST with organizations outside Europe, especially in the USA, is being pursued.

Inleiding

Vloeibare technieken om antibacteriële activiteit aan te tonen werden al in de 19e eeuw toegepast door onder meer Lister [1]. Een van de eerste beschreven gevoeligheidsbepalingen op een antibioticum werd verricht door, hoe kan het anders, Alexander Fleming [2]. Al snel werd duidelijk dat antibiotica niet universeel effectief zijn voor verschillende bacteriesoorten en dat zich bovendien resistentie kan ontwikkelen. Daarom ontstond na de researchfase de noodzaak tot het toepassen van gevoeligheidsbepalingen in een klinische setting. Met name in de naoorlogse periode

Correspondentieadres: Prof. dr. J.E. Degener, arts microbioloog n.p. (degener@planet.nl)

experimenteerden laboratoria zelf met agar- en bouillon-dilutietechnieken of met diffusiemethoden met testschijfjes (discs) [3]. Laboratoria maakten zelf antibioticumtestschijfjes of verkregen deze van diagnosticabedrijven. Over de ervaringen met het in eigen beheer fabriceren van testmateriaal en de resultaten die daarmee werden verkregen, zijn de nodige anekdotes te vertellen. De reproduceerbaarheid gaf nog wel eens problemen en ook tussen laboratoria verschilden de uitslagen en de interpretaties [4]. Deze periode heeft nog tamelijk lang geduurd. Vanuit het laboratorium kon men slechts het advies geven dat een middel misschien beter niet kon worden toegediend. Zo'n advies kon als volgt zijn geformuleerd: "Er groeit een bacterie, of juist niet, in aanwezigheid van middel X bij een concentratie Y waarvan de klinische relevantie bij een infectie op plaats Z niet geheel duidelijk is". Aldus geïnformeerd zette de behandelend arts een inmiddels gestarte therapie meestal maar door als de patiënt een gunstige respons toonde onder het motto: "never change a winning horse". David Greenwood heeft hier in zijn klassieke artikel "In Vitro Veritas" in die tijd op indrukwekkende manier op gereflecteerd [5]. Hieruit bleek de noodzaak om aan de hand van klinische, microbiologische en farmacologische parameters en met goed gedefinieerde en reproduceerbare gevoeligheidsbepalingen criteria te ontwikkelen. Zo zou met grotere zekerheid het slagen of falen van antimicrobiële therapie kunnen worden voorspeld. Hierbij was het gewenst om een breed gedragen consensus te verkrijgen, hetgeen lang niet eenvoudig zou blijken.

Standaardisatie van techniek

De discussie over standaardisatie van methoden gaat gepaard met het ontwikkelen van interpretatieve criteria. Aanbevelingen voor het toepassen van vloeibare en vaste voedingsbodems, bereiding van inocula, incubatieduur, temperatuur en wijze van aflezen na groei werden gepubliceerd vanaf 1960 [4-9]. Eerst in de Verenigde Staten en later in samenwerking met een groep in Zweden werd op dit gebied pionierswerk verricht. De Amerikaanse richtlijnen van de National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) vonden internationaal weerklank. Er ontstond discussie of de gevoeligheidsinterpretaties van de NCCLS zonder meer van toepassing waren op

de praktijk in Nederland. Daarom werd in 1972, inmiddels een halve eeuw geleden, namens de Vereniging voor Infectieziekten de Werkgroep Richtlijnen Gevoeligheidsbepalingen (WRG) opgericht. Deze werkgroep stelde zich als doel een voor de praktijk gestandaardiseerde methode te ontwikkelen. Door middel van eigen werkzaamheid zou de werkgroep de ondersteuning bieden voor implementatie in het laboratorium. De werkgroep stond onder voorzitterschap van prof. dr. R.P. Mouton. De werkwijze is uitvoerig beschreven in het proefschrift van Fabius [4]. Veel toegepast onderzoek werd verricht door met grote collecties bacteriestammen aan de hand van de resultaten van MRC-bepalingen (MRC: minimale remmende concentratie) en agardiffusietests regressiecurves te construeren. De antibioticumconcentraties in discs en in verdunningsreeksen, de voedingsmedia en de inocula werden hiertoe, naast andere aspecten, tot in detail beschreven. Om onderscheid te kunnen maken tussen voor antimicrobiële middelen gevoelige en ongevoelige bacteriën, werd rekening gehouden met de biologische verdeling van bacteriepopulaties. Deze laat in het beste geval een bifasische curve zien van de MRC van het onderzochte middel tegen de geteste collectie bacteriestammen. In diverse gevallen is het betrekkelijk eenvoudig om het onderscheid tussen gevoelige en ongevoelige populaties te maken, die ieder voor zich een aparte Gauss-curve laten zien. Voor de niet in alle gevallen klinische relevantie hiervan wordt verwezen naar het hiervoor genoemde artikel van Greenwood [5]. Als dat verstandig leek, werd met het invoeren van een intermediair gevoelige groep een veiligheidsmarge ingebouwd. Hier moet opnieuw de NCCLS worden genoemd, die in dit aspect gepioneerd heeft en waarvoor deze strategie leidend was. De kennis over de farmacologie van oudere en nieuwe middelen, waarvan de ontwikkeling vanaf de jaren zestig een hoge vlucht nam, nam intussen toe. Daardoor kon steeds meer rekening gehouden worden met de kinetische eigenschappen van de middelen. Met deze gegevens konden gevoeligheidscriteria worden vastgesteld bij verschillende toepassingen, zoals bij systemische of niet systemische infecties en urineweginfecties. De WRG heeft van meet af aan de interpretatie van de gevoeligheid op grond van deze kennis laten prevaleren [10-13]. Deze benadering heeft geleid tot verschillen in de gevoeligheidsinterpretaties tussen de WRG en de NCCLS. Immers, factoren die

de biologische beschikbaarheid van een antimicrobieel middel bepalen, kunnen leiden tot een andere inschatting van het beoogde therapeutisch effect dan een aanname op grond van een antibacteriële respons in-vitro. De gegevens voortkomend uit de WRG-methodiek vormden de onderbouwing voor de in Nederland aanbevolen doseringsadviezen. Deze konden aanzienlijk afwijken van de in de Verenigde Staten vigerende praktijk. Het is de rechtvaardiging geweest voor het in stand houden van een eigen nationale werkgroep c.q. adviesorgaan.

Ontwikkelingen in Europa

Inmiddels waren zowel binnen als buiten Europa steeds meer instanties actief om op nationaal niveau te standaardiseren en normerende criteria te ontwikkelen. De mate van handhaving varieerde van tamelijk vrijblijvend (Verenigd Koninkrijk) tot rigide en in detail omschreven (Verenigde Staten van Amerika). Zweden is al genoemd, maar ook in Duitsland, Italië en in Frankrijk was men actief. Gemechaniseerde of geautomatiseerde commerciële methoden kwamen op de markt. Deze werden elders ontwikkeld en kregen criteria, meestal NCCLS-gevoeligheidsbreekpunten, ingebouwd. Het advies moest worden gegeven deze apparaten niet ondoordacht in het laboratorium te introduceren [14]. Hetzelfde gold voor de informatie uit bijsluiters van fabrikanten van verbruiksmiddelen voor de conventionele bepalingen. Steeds meer werd gebruikgemaakt van commerciële producten. Producenten waren, zij het soms schoorvoetend, genegen zelf regressiecurves te genereren. Daarom werd ongeveer 30 jaar geleden besloten de arbeidsintensieve eigen laboratoriumwerkzaamheden van de WRG-leden te staken. Voorgesteld werd om voor het toepassen van de gevoeligheidscriteria de adviezen te volgen van de inmiddels functionerende European Study Group on Antibiotic Breakpoints (ESGAB), een subcommissie van de European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID). De WRG was in die commissie vertegenwoordigd [15-19]. Dit besluit is gecommuniceerd met de leden van de Nederlandse Vereniging voor Medische Microbiologie (NVMM) [20] en stuitte niet op enig bezwaar. De ESGAB-criteria waren veelal in overeenstemming met die van de WRG, die vanaf 1995 de Commissie Richtlijnen Gevoeligheidsbepalingen (CRG) zou worden genoemd [21]. De CRG zou geen adviezen meer geven

voor het uitvoeren van de laboratoriumbepalingen. In het vervolg zou men zich nog uitsluitend bezig houden met het formuleren van gevoeligheidscriteria en doseringsschema's aan de hand van kennis van farmacodynamiek en farmacokinetiek. Het verschil van benadering met die van de NCCLS was nog steeds vigerend en werd in een overzichtartikel in het *Nederlands Tijdschrift voor Medische Microbiologie* van 2000 nog eens verduidelijkt [21].

De European Committee on Antibiotic Susceptibility Testing (EUCAST)

Inmiddels erkende de ESCMID het belang van internationale consensus over de toepassing van gevoeligheidsbepalingen en de interpretatie daarvan. Op initiatief van de voorzitter van ESGAB, I. Phillips, werd onder auspiciën van ESCMID in 1995 de European Committee on Antibiotic Susceptibility Testing (EUCAST) in het leven geroepen. Het doel was een breed Europees draagvlak te creëren voor harmonisatie van de techniek van gevoeligheidsbepalingen en breekpunten. Niet alleen verbetering van de kwaliteit, maar ook het uitwisselbaar maken en kunnen vergelijken van data zou hiermee gediend moeten worden. Verschillende EUCAST-subcommissies gingen aan de slag om adviezen te ontwikkelen over breekpunten, diluïemethoden, kwaliteitscontrole, terminologie en pathogenen, die bijzondere aandacht verdienden zoals mycobacteriën en fungi. Een van deze adviezen deed de CRG destijds beslissen het U-breekpunt voor de concentraties in urine af te schaffen [22]. Daar waren zowel praktische als technische argumenten voor aan te voeren. Door voortschrijdend wetenschappelijk inzicht kwam de relatie tussen de hoogte van serumconcentratie, tijdsduur van deze concentratie boven de MRC en de afstervingscurve van de bacteriepopulatie in zicht. Naast andere farmacologische eigenschappen was dit per antibioticumklasse van invloed op de hoogte van kritische MRC-grenswaarden [23]. Bovendien bleek dit van essentieel belang voor het in overeenstemming brengen met doseringsadviezen. Nationale grenswaarden bleven echter hardnekkig verschillen, hetgeen toenemend problematisch werd door de internationale verspreiding van (multi)resistente stammen. Om deze ontwikkeling te kunnen volgen, werd het belang van harmonisatie van techniek en de interpretatie van resultaten van gevoeligheids-

bepalingen uit epidemiologisch oogpunt steeds groter [24]. In de rubriek *Notes and Comments* van *Clinical Microbiology and Infection* werd de dringende oproep gedaan aan de professie om te overwegen geringe verschillen te overbruggen en een besluit te nemen over gezamenlijke Europese breekpunten. Zelfs werd ter overweging gegeven om hierbij NCCLS-criteria te betrekken [25]. Intussen was reeds een Europees surveillancenetwerk actief om de opkomst en verspreiding van resistente stammen te kunnen volgen [26,27]. Het merendeel van bij dit netwerk (European Antimicrobial Resistance Surveillance System Network EARSS, later EARS-Net) betrokken instituten zou in de loop der jaren data verzamelen op basis van de EUCAST-criteria [28].

In 2001 nam Gunnar Kahlmeter het EUCAST-voorzitterschap over van Ian Phillips. Op 11 september van dat jaar bezocht Kahlmeter het RIVM voor een bijeenkomst met de CRG, die inmiddels ernstig had overwogen om zich formeel te verbinden met EUCAST. Die bijeenkomst werd omstreeks 15.00 uur wreed verstoord door een bericht over een grote ramp in New York, die spoedig een terroristische aanslag bleek. Kort daarna werd de vergadering beëindigd en kon de CRG zich met een voorstel wenden tot de beroepsverenigingen. Vanaf 2002 representeerde Johan Mouton Nederland in EUCAST tot zijn veel te vroege overlijden in 2019. Johan was tot op het laatst van zijn leven zeer betrokken bij de EUCAST Steering Committee. Hij heeft grote invloed gehad op de wetenschappelijke onderbouwing van de EUCAST-adviezen, waar tot op de dag van vandaag vele laboratoria en klinici in Europa hun besluitvorming voor therapeutische keuzes op baseren. Het is belangrijk dat consultatieverzoeken van de EUCAST op nationaal niveau worden beoordeeld en dat de adviezen van EUCAST landelijk worden geïmplementeerd. Waar nodig, moeten voor de lokale situatie richtlijnen op maat worden gemaakt. Daartoe zijn nationale antibioticacommissies (NAC's) werkzaam. Als een alternatief voor de CRG zal ook in Nederland in overleg tussen de NVMM en de Stichting Werkgroep Antibioticabeleid (SWAB) een NAC worden gevormd. Deze NAC zal functioneren onder auspiciën van de SWAB (mondelinge mededeling, G.A. Kampinga).

Ten slotte

De ontwikkeling in Europa is de Amerikaanse

evenknie, het Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI, voorheen NCCLS) niet ontgaan. Hieruit heeft zich een subcommittee gevormd, die beoogt aan te sluiten bij de activiteiten van EUCAST: USCAST [29]. Door aanpassing van de gevoeligheidscriteria, kunnen deze gaan afwijken van de tot nu toe gehanteerde CLSI-grenswaarden. Samen met de door EUCAST ontwikkelde richtlijnen en adviezen zal dit initiatief van betekenis zijn voor surveillancenetwerken en bij andere initiatieven voor het volgen van de epidemiologie van de antimicrobiële gevoeligheid. De vroege herkenning van de verspreiding van resistentie is een voorwaarde voor de bestrijding en het kunnen nemen van preventieve maatregelen. Epidemiologische maatregelen kunnen een grote maatschappelijke impact veroorzaken. De argumenten daarvoor moeten gebaseerd zijn op reproduceerbare data, die verkregen zijn met internationaal gestandaardiseerde en geharmoniseerde methoden.

Referenties

1. Selwyn S. The beta-lactam antibiotics: Penicillins and cephalosporins in perspective. Hodder and Stoughton. London, Sydney, Auckland, Toronto. 1980; ISBN 0 340 22523: 130.
2. Fleming A. On the antibacterial actions of cultures of a penicillium, with special reference to their use in the isolation of *B. influenzae*. *Br J Exp Pathol*. 1929;10:226-36.
3. Barry A.L. The antimicrobial susceptibility test: Principles and practices. Lea and Febiger. Philadelphia. 1976.
4. Fabius GTJ. Standaardisatie van gevoeligheidsbepalingen voor antibiotica. Proefschrift. 1979.
5. Greenwood D. In Vitro Veritas? Antimicrobial susceptibility tests and their clinical relevance. *J Infect Dis*. 1981;144:380-5.
6. Ericsson H. The paper disc method for determination of bacterial sensitivity to antibiotics. *J. Clin & Lab Invest*. 1960;12:1-15.
7. World Health Organization. Standardization of methods for conducting microbial sensitivity test. Second report of the expert committee on antibiotics. World Health Organization Technical Reports Series. 1961;210:1-24.
8. Bauer AW, Kirby WMM, Sherris JC, et al. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am J Clin Pathol*. 1966;45:493-6.
9. Ericsson HM, Sherris JC. Antibiotic sensitivity testing. Report of an international collaborative study. *Acta Pathol Microbiol Scand. Sect B, Suppl*. 217. 1971.
10. Standaardisatie van Gevoeligheidsbepalingen. Verslag van de Werkgroep Richtlijnen gevoeligheidsbepalingen. Eds. Mouton RP, Klinger B van. Uitgebracht onder auspiciën van de Vereniging voor Infectieziekten. RIVM, Bilthoven. 1981.

11. Standaardisatie van Gevoeligheidsbepalingen. SI. Verslag van de Werkgroep Richtlijnen Gevoeligheidsbepalingen. Eds. Mouton RP, Klinger B van. Uitgebracht onder auspiciën van de Vereniging voor Infectieziekten. ISBN 90-6960-001-3. RIVM, Bilthoven. 1985.
12. Standaardisatie van Gevoeligheidsbepalingen. SII. Verslag van de Werkgroep Richtlijnen Gevoeligheidsbepalingen. Eds. Klinger B van, Mouton RP. Uitgebracht onder auspiciën van de Vereniging voor Infectieziekten. ISBN 90-6960-003-X met bijlage ISBN 90-6960=004-8. RIVM, Bilthoven 1990.
13. Degener JE, Klinger B van. Antimicrobiële middelen en gevoeligheid. *Geneesmiddelenbulletin*. 1991;6:25-9.
14. Degener JE, Thonus IP, Michel MF. The antimicrobial susceptibility test: a comparison of the results of four methods. *J Appl Bacteriol*. 1981;50:505-17.
15. Phillips, Acar J, Baquero F, et al. ESGAB breakpoint determination: clarithromycin. *Eur J Clin Microbiol & Infect Dis*. 1991;10:993-4.
16. Phillips I, Acar J, Baquero F, et al. ESGAB breakpoint determination: temafloxacin. *Eur J Clin Microbiol & Infect Dis*. 1991;11:991-2.
17. Phillips I, Baquero F, Bergan T, et al. European Study Group on Antibiotic Breakpoints. Breakpoint determination: Rofloxacine, piperacilline/tazobactam. *Eur J Clin Microbiol & Infect Dis*. 1993;12:574-7.
18. Phillips I, Acar J, Baquero F, Bergan T, et al. European Study Group on Antibiotic Breakpoints. Breakpoint determination: sparfloxacine. *Eur J Clin Microbiol & Infect Dis*. 1994;3:283-4.
19. Phillips I, Acar J, Bergan T, et al. European Study Group on Antibiotic Breakpoints. Breakpoint determination: cefepime. *J Clin Microbiol & Infect Dis*. 1994;3:282-3.
20. Degener JE. Werkgroep Richtlijnen Gevoeligheidsbepalingen (WRG). Mededelingen werkgroepen en verenigingen. *Ned Tijdschr Med Microbiol*. 1993;1:18.
21. Mouton JW, Degener JE, Klinger B van, et al. Het vaststellen van gevoeligheidscriteria voor antibacteriële middelen in Nederland: verleden, heden en toekomst. *Ned Tijdschr Med Microbiol*. 2000;3:73-8.
22. EUCAST: Terminology relating to methods for the determination of susceptibility of bacteria to antimicrobial agents. *Clin Microbiol Infect*. 2000; 6:503-8.
23. EUCAST: Determination of antimicrobial susceptibility test breakpoints. *Clin Microbiol Infect*. 2000;6:570-2.
24. Leegaard TM, Caugant DA, Frøholm LO, et al. Apparent differences in antimicrobial susceptibility as a consequence of national guidelines. *Clin Microbiol Infect*. 2000;6:290-3.
25. Degener JE, Phillips I. Comparison of antimicrobial susceptibility test breakpoints of national societies. *Clin Microbiol Infect*. 2001;7:51-4.
26. Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu (RIVM). <https://www.rivm.nl/publicaties/european-antimicrobial-resistance-surveillance-system-earss-objectives-and-organisation>
27. European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). <https://www.ecdc.europa.eu/en/about-us/networks/disease-networks-and-laboratory-networks/ears-net-about>
28. Brown D, Canton R, Dubreuil L, et al. Widespread implementation of EUCAST breakpoints for antibacterial susceptibility testing in Europe. *Eur Surveill*. 2015; 20: 21008.
29. <http://www.uscast.org/>