

ANÁLISIS DE RESULTADOS DE DETECCIÓN GENOTÍPICA DE MECANISMOS DE RESISTENCIA BACTERIANA POR TÉCNICAS MOLECULARES. GR-1A/22y GR-1B/22

En el Análisis de Resultados de estos dos controles se comentan los resultados obtenidos en la detección de mecanismos de resistencia bacteriana mediante métodos genotípicos de las muestras enviadas como control externo. Cada muestra consistía en un hisopo en medio de transporte de Amies preparado por el Programa de Control de Calidad Externo SEIMC (Programa CCS) a partir de una cepa bacteriana de reserva que había sido debidamente almacenada y, cuyo estudio, fue realizado por laboratorios externos expertos que actuaron de referencia para el Programa. Además, se confirmó la homogeneidad y estabilidad de las muestras a través de ensayos realizados tras su preparación y tras su envío, asegurando así la validez de las mismas.

El valor asignado se determinó a partir del consenso de resultados (coincidencia de resultados) aportados por dos laboratorios expertos, que emplearon métodos con sensibilidad y especificidad adecuados para cada determinación. Estos laboratorios expertos colaboran con el Programa CCS mediante la firma de acuerdos.

El presente Análisis de Resultados ha sido elaborado por especialistas en Microbiología y Parasitología.

La confidencialidad de todos los resultados está asegurada a través de la firma de Compromisos de Confidencialidad por parte de todo el personal del Programa CCS y de sus colaboradores.

INTRODUCCIÓN

Se solicitó a los participantes que, mediante técnicas de Microbiología Molecular, realizaran las detecciones de los genes implicados en la **resistencia a la meticilina** en una cepa de *Staphylococcus aureus* (GR-1A/22) y de **β -lactamasas** en una cepa de *Klebsiella pneumoniae* (GR-1B/22); así como que formularan los **comentarios y sugerencias** que considerasen oportunos.

VALOR ASIGNADO

El valor asignado de referencia (valor de consenso de expertos empleado para el análisis comparativo) para cada una de las determinaciones fue el siguiente:

- **GR-1A/22- Detección de resistencia a la meticilina mediante LAMP:** Positiva para el gen *mec C*.
- **GR-1B/22 - Detección de β -lactamasa mediante PCR múltiple + hibridación:** Positiva para el gen productor de SHV.

GR-1A/22 y GR-1B/22

PARTICIPACIÓN

En total, se enviaron 68 muestras a los distintos laboratorios inscritos en esta área. En el control **GR-1A/22** hubo 61 centros que remitieron hoja de respuesta. De ellos, 2 no realizaron, mediante métodos moleculares, la determinación solicitada en este control. Así, en realidad fueron 59 los centros que aportaron algún resultado valorable, lo que supone un porcentaje de participación real del 86,8%. Este porcentaje es similar al del control GR-1A/21 (90,9%) en el que también se solicitó la detección genotípica de la resistencia a la meticilina en una cepa de *S. aureus*.

En cuanto al control **GR-1B/22**, de los 68 centros inscritos en esta área 60 remitieron la hoja de respuesta. De ellos, 8 participantes no efectuaron, por métodos moleculares, la determinación solicitada, por lo que hubo 52 centros con resultados analizables. Así, el porcentaje de participación real fue del 76,5%, similar al del control GR-2A/21(74,2%) en el que también se solicitó la detección genotípica de β -lactamasa en una cepa de *Escherichia coli*.

CONTROL GR-1A/22: DETECCIÓN GENOTÍPICA DE LA RESISTENCIA A LA METICILINA

De los 59 participantes que emitieron resultados valorables, 53 (89,8%) obtuvieron un resultado positivo en esta determinación, coincidiendo con el valor asignado. Los resultados discrepantes correspondían a 6 centros(10,2%) que informaron un resultado negativo.

En cuanto a la diana, la mayoría de los centros llevaron a cabo la detección del gen *mecC*, bien de forma aislada o bien junto con el gen *mecA* y con otros elementos del casete SCC *mec*.

Respecto a los métodos utilizados, la técnica mayoritaria fue la PCR a tiempo real, empleada en 26 de las 59 determinaciones (44,1%), con un predominio de los cartuchos Xpert® de Cepheid. La totalidad de los métodos y marcas informadas por los participantes se muestra en la tabla 1.

Tabla 1. Detección genotípica de la resistencia a la meticilina según método y marca comercial utilizada.

Método	Marca	Diana	Positivo (% ^a)	Negativo (% ^a)	Total Número (% ^b)
PCR <i>real-time</i>	Xpert® (Cepheid)	<i>mecA / mecC</i>	9 (100,0)	–	9 (15,3)
	FilmArray® (bioMérieux)	<i>mecA/mecC</i> yMRE J	7 (100,0)	–	7 (11,8)
	Xpert® (Cepheid)	<i>mecA</i>	–	4 (100,0)	4 (6,8)
	BD MAX™(BD)	<i>mecA / mecC</i> MREJ	3 (100,0)	–	3(5,1)
	LightCycler® (Roche)	<i>mecC</i>	1 (100,0)	–	1 (1,7)
	Desarrollo propio	<i>mecC</i>	2 (100,0)	–	2 (3,4)

GR-1A/22 y GR-1B/22

PCR múltiple + hibridación	AMR Direct Flow Chip (Master Diagnóstica®)	<i>mecC</i>	6 (85,7)	1 (14,3)	7 (11,8)
	AMR Direct Flow Chip (Master Diagnóstica®)	<i>mecA</i>	–	1 (100,0)	1 (1,7)
LAMP	eazyplex® (Amplex)	<i>mecC</i>	7 (100,0)	–	7 (11,8)
PCR	Desarrollo propio	<i>mecC</i>	7 (100,0)	–	7 (11,8)
PCR + fluorescencia resuelta en el tiempo	GenomEra® (Abacus)	<i>mecA / mecC</i>	3 (100,0)	–	3 (5,1)
Secuenciación masiva	Desarrollo propio	<i>mecC</i>	3 (100,0)	–	3 (5,1)
PCR múltiple	Desarrollo propio	<i>mecC</i>	2 (100,0)	–	2 (3,4)
Microarray	Desarrollo propio	No informa	1 (100,0)	–	1 (1,7)
No informa	No especifica	No informa	2 (100,0)	–	2 (3,4)
Total ^b	–	–	53 (89,8)	6 (10,2)	59 (100,0)

^aPorcentaje respecto al número de participantes que usa esa marca. ^bPorcentaje respecto del total de determinaciones. Abreviaturas: PCR, reacción en cadena de la polimerasa. LAMP, *loop mediated isothermal amplification*.

CONTROL GR-1B/22: DETECCIÓN GENOTÍPICA DE β -LACTAMASA

De los 52 centros que informaron esta prueba con resultados valorables, únicamente 38 (73,1%) obtuvieron un resultado positivo, coincidiendo con el valor asignado. Los resultados discrepantes correspondían a 14 centros (26,9%) que informaron un resultado negativo.

En cuanto a las dianas informadas, 33 de los 38 centros (86,8%) detectaron el gen productor de la β -lactamasa SHV. De ellos, 5 especificaron que se trataba de la β -lactamasa SHV-18 y otros 2 centros de la SHV-12. El conjunto de los resultados informados se detalla en la tabla 2.

Por lo que respecta a los métodos utilizados hubo un ligero predominio de la PCR múltiple más hibridación y de la PCR a tiempo real, que fueron efectuadas cada una por 12 de los centros (23,1%). Respecto a las marcas utilizadas, hubo una amplia variedad de ellas, con un predominio de las tiras Flow Chip de Máster Diagnóstica®.

Tabla 2. Detección genotípica de β -lactamasa según método y marca comercial utilizada.

Método	Marca	Diana	Positivo (% ^a)	Negativo (% ^a)	Total Número (% ^b)
PCR múltiple + hibridación	AMR Flow Chip (Máster Diag.)	SHV	9 (90,0)	1 (10,0)	10 (19,3)
	AMR Flow Chip (Máster Diag.)	CTX-M	1 (50,0)	1 (50,0)	2 (3,8)

GR-1A/22 y GR-1B/22

PCR <i>real-time</i>	Allplex™ (Seegene)	KPC, OXA-48, VIM, IMP, CTX-M	–	1 (100,0)	1 (1,9)
	FilmArray® (bioMérieux)	CTX-M	–	6 (100,0)	6 (11,6)
	BD MAX™	CTX-M, SHV	–	1 (100,0)	1 (1,9)
	Bio-Rad	CTX-M	–	1 (100,0)	1 (1,9)
	FilmArray® (bioMérieux)	SHV	1 (100,0)	–	1 (1,9)
	LightCycler® (Roche)	SHV	1 (100,0)	–	1 (1,9)
	Seeplex® (Seegene)	CTX	–	1 (100,0)	1 (1,9)
PCR	Desarrollo propio	SHV	5 (100,0)	–	5 (9,7)
	Desarrollo propio	CTX-M-1	1 (100,0)	–	1 (1,9)
	Desarrollo propio	SHV-12	1 (100,0)	–	1 (1,9)
Secuenciación masiva	Illumina	SHV-18	5 (100,0)	–	5 (9,7)
	Applied	SHV-18, OXA-2	1 (100,0)	–	1 (1,9)
PCR múltiple	Desarrollo propio	SHV	3 (100,0)	–	3 (5,8)
	Desarrollo propio	SHV-18	2 (100,0)	–	2 (3,8)
LAMP	eazyplex® (Amplex)	CTX-M-1	1 (33,3)	2 (66,7)	3 (5,8)
	eazyplex® (Amplex)	SHV, TEM, OXA, CTX-M	1 (100,0)	–	1 (1,9)
Secuenciación	Desarrollo propio	SHV-18	2 (100,0)	–	2 (3,8)
	Desarrollo propio	SHV	1 (100,0)	–	1 (1,9)
No informa	No especifica	AmpC	1 (100,0)	–	1 (1,9)
	No especifica	SHV-12 + CTX-M-15	1 (100,0)	–	1 (1,9)
	No especifica	SHV-18	1 (100,0)	–	1 (1,9)
Total ^b	–	–	38 (73,1)	14 (26,9)	52 (100,0)

^a Porcentaje respecto al número de participantes que usa esa marca. ^b Porcentaje respecto del total de determinaciones.

Abreviaturas: PCR, reacción en cadena de la polimerasa. LAMP, *loop mediated isothermal amplification*.

UTILIZACIÓN DE UN LABORATORIO EXTERNO

Por lo que respecta a la necesidad de utilizar un laboratorio externo en el control GR-1A/22, de los 59 participantes con respuestas valorables, únicamente fue utilizado por un centro (1,7%). Respecto al control GR-1B/22, de los 52 participantes con respuestas valorables, fue utilizado por 2 participantes (3,8%).

GR-1A/22 y GR-1B/22

COMENTARIOS DE LOS PARTICIPANTES

En el primer control, 4 centros comentaron explícitamente que la cepa de *S. aureus* remitida era portadora del gen *mecC*, otros 2 centros especificaron que la cepa era negativa para el gen *mecA* y 2 centros señalaron que su sistema comercial utilizado no podía diferenciar *mecA* de *mecC*.

En el segundo control, 7 centros señalaron que fenotípicamente la cepa remitida era portadora de una β -lactamasa de espectro extendido (BLEE), pero que genotípicamente no fueron capaces de detectar ninguna β -lactamasa. Dos de los mismos añadieron que el sistema molecular que habían utilizado únicamente detectaba la CTX-M. Dos centros comentaron explícitamente que la cepa era portadora del gen productor de SHV-18.

Madrid, 1 de junio de 2022

 Controlcalidadseimc
C/ Agustín de Betancourt, 13
Entreplanta - 28003 Madrid
NIF: G-78387057

Concepción Gimeno Cardona

Coordinadora del Programa de Control de Calidad SEIMC

Nota: todos los comentarios o sugerencias generales, clínicas, microbiológicas o terapéuticas que los participantes han considerado oportuno indicar, no son objeto de evaluación por parte del Programa CCS.

Nota: si los datos anteriores son incorrectos o consideran oportuno apelar los resultados, rogamos se dirijan a la Secretaría del Programa CCS.

Nota: las actividades subcontratadas por el Programa CCS son el transporte de las muestras, el valor asignado, y los estudios de homogeneidad y estabilidad. Si en un determinado momento, se necesita subcontratar otras actividades diferentes a las indicadas se informará debidamente.

GR-1A/22 y GR-1B/22