

ANÁLISIS DE RESULTADOS DE DETECCIÓN GENOTÍPICA DE MECANISMOS DE RESISTENCIA BACTERIANA GR-2A/17 y GR-2B/17

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, por técnicas de Microbiología Molecular, la detección de: **β -lactamasas** en una cepa de *Klebsiella pneumoniae* (GR-2A/17), y de **resistencia a los glucopéptidos** en una cepa de *Enterococcus faecium* (GR-2B/17); así como que formularan los **comentarios y sugerencias** que considerasen oportunos.

VALOR ASIGNADO

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

- **GR-2A/17- Detección de β -lactamasa mediante PCR cualitativa seguida de secuenciación:** Positiva para el gen *bla_{SHV-18}* (desarrollo propio).
- **GR-2B/17- Detección de resistencia a los glucopéptidos mediante PCR a tiempo real:** Positiva para el gen *vanA* (GenXpert®, Cepheid).

PARTICIPACIÓN

En total, se enviaron 50 muestras a los distintos laboratorios, de los que 37 remitieron hoja de respuesta. De ellos, 10 centros no realizaron ninguna de las dos determinaciones solicitadas, por lo que en realidad fueron 27 los centros que aportaron algún resultado valorable, lo que supone un porcentaje de participación real del 54,0%. Este porcentaje es inferior al del último control de genotipos de resistencia, en el que la participación fue del 86,0%.

CONTROL GR-2A/17: DETECCIÓN GENOTÍPICA DE β -LACTAMASA

Esta determinación fue realizada por 25 de los 27 centros con resultados evaluables (92,6%). De ellas, 21 se informaron como positivas (84,0%), mientras que las 4 determinaciones restantes (16,0%) fueron negativas.

En cuanto a las dianas informadas, de los 21 centros que obtuvieron un resultado positivo, 16 detectaron el gen productor de SHV, de los cuales diez especificaron que se trataba de una SHV-18. Además, 2 de estos dieciséis laboratorios detectaron el gen productor de OXA-2. El resto de los resultados informados se detalla en la tabla 1.

Respecto a los 4 centros que obtuvieron un resultado negativo, dos de ellos realizaron únicamente la detección de CTX-M, otro sólo la detección de diversas carbapenemasas, mientras que el centro restante efectuó la detección de CTX-M, TEM, SHV, OXA y de diferentes carbapenemasas.

Por lo que respecta a los métodos utilizados, hubo un ligero predominio de la PCR convencional y de la secuenciación (24,0% cada uno de ellos). El conjunto de los métodos y marcas empleadas se muestra en la tabla 1.

Tabla 1. Detección genotípica de β -lactamasa según método y marca comercial utilizada.

Método	Marca	Diana	Positivo (% ^a)	Negativo (% ^a)	Total Número (% ^b)
PCR	Desarrollo propio	SHV-18	2 (100,0)	–	2 (8,0)
	Desarrollo propio	SHV-18 y OXA-2	1 (100,0)	–	1 (4,0)
	Desarrollo propio	SHV	1 (100,0)	–	1 (4,0)
	Desarrollo propio	TEM	2 (100,0)	–	2 (8,0)
Secuenciación	Desarrollo propio	SHV-18	5 (100,0)	–	5 (20,0)
	Desarrollo propio	SHV-18 y OXA-2	1 (100,0)	–	1 (4,0)
PCR <i>real-time</i>	RealCycler® (Progenie)	CTX-M	1 (33,0)	2 (67,0)	3 (12,0)
	CFX96™ (Bio-Rad)	OXA-48	1 (100,0)	–	1 (4,0)
	Xpert® (Cepheid)	NDM, VIM, IMP-1, OXA-48, KPC	–	1 (100,0)	1 (4,0)
PCR múltiple + hibridación	AMR Direct Flow Chip (Master Diagnostics)	SHV	4 (100,0)	–	4 (16,0)
	Check-MDR (Hain)	SHV	1 (100,0)	–	1 (4,0)
PCR múltiple	Desarrollo propio	CTX-M	1 (100,0)	–	1 (4,0)
	Desarrollo propio	CTX-M, TEM, SHV, OXA	–	1 (100,0)	1 (4,0)
	Desarrollo propio	SHV-18	1 (100,0)	–	1 (4,0)

Total ^b	–	–	21 (84,0)	4 (16,0)	25 (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.

CONTROL GR-2B/17: DETECCIÓN GENOTÍPICA DE RESISTENCIA A LOS GLUCOPÉPTIDOS

La determinación de la resistencia a los glucopéptidos por métodos moleculares fue realizada por 23 de los 27 laboratorios que aportaron hoja de respuesta analizable (85,2%). Todos estos 23 participantes aportaron un resultado positivo (100,0%), coincidiendo con el valor asignado.

Respecto a la diana utilizada, todos los centros detectaron el gen *vanA*, bien de forma aislada o bien junto con el gen *vanB*.

En cuanto a los métodos utilizados, hubo un predominio de la PCR convencional (34,7%), seguida de la PCR múltiple (21,7%). Respecto a las marcas utilizadas, la mayoría fueron también de desarrollo propio. El conjunto de los métodos y marcas empleadas se muestra en la tabla 2.

Tabla 2. Detección genotípica de resistencia a los glucopéptidos según método y marca comercial utilizada.

Método	Marca	Diana	Positivo (% ^a)	Total Número (% ^b)
PCR	Desarrollo propio	<i>vanA</i>	8 (100,0)	8 (34,7)
PCR múltiple	Desarrollo propio	<i>vanA</i>	5 (100,0)	5 (21,7)
PCR <i>real-time</i>	Xpert® (Cepheid)	<i>vanA</i>	2 (33,0)	2 (8,7)
	CFX96™ (Bio-Rad)	<i>vanA/B</i>	1 (100,0)	1 (4,4)
	Anyplex™ (Seegene)	<i>vanA</i>	1 (100,0)	1 (4,4)
PCR múltiple + hibridación	AMR Direct Flow Chip (Master Diagnóstica)	<i>vanA</i>	3 (100,0)	3 (13,0)
<i>Microarray</i>	FilmArray®	<i>vanA/B</i>	2 (100,0)	2 (8,7)
Secuenciación	Desarrollo propio	<i>vanA</i>	1 (100,0)	1 (4,4)
Total ^b	–	–	23 (100,0)	23 (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.

UTILIZACIÓN DE UN LABORATORIO EXTERNO

De las 27 hojas de respuesta remitidas con resultados analizables, fueron 25 los centros que indicaron que no recurrieron a un laboratorio externo de referencia, lo que supone un porcentaje del 92,6%; mientras que los 2 laboratorios restantes indicaron que sí lo utilizaron (7,4%), uno de ellos de forma parcial.

COMENTARIOS DE LOS PARTICIPANTES

Dos centros comentaron que habían obtenido una PCR negativa para las carbapemasas VIM, IMP, KPC y NDM. Otros dos centros especificaron que, tras la PCR habían realizado un estudio de secuenciación, caracterizándose como SHV-18.

Por último, dos centros comentaron explícitamente que no disponían de técnicas moleculares para la detección de estos genes de resistencia.

Madrid, 23 de abril de 2018

 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.