

ANÁLISIS DE RESULTADOS DE DETECCIÓN GENOTÍPICA DE MECANISMOS DE RESISTENCIA BACTERIANA POR TÉCNICAS MOLECULARES. GR-1A/21 y GR-1B/21

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, las detecciones de los genes implicados en la **resistencia a la meticilina** en una cepa de *Staphylococcus aureus* (GR-1A/21) y de **carbapenemasa** en una cepa de *Pseudomonas aeruginosa* (GR-1B/21); 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 estudio comparativo) para cada una de las determinaciones fue el siguiente:

- **GR-1A/21- Detección de resistencia a la meticilina mediante LAMP:** Positiva para el gen *mecA*.
- **GR-1B/21 - Detección de carbapenemasa mediante LAMP:** Positiva para el gen productor de VIM (*bla_{VIM}*).

GR-1A/21 y GR-1B/21

PARTICIPACIÓN

En total, se enviaron 66 muestras a los distintos laboratorios inscritos en esta área. En el control **GR-1A/21** hubo 62 centros que remitieron hoja de respuesta. De ellos, dos no realizaron la determinación mediante métodos moleculares, por lo que en realidad fueron 60 los centros que aportaron algún resultado valorable, lo que supone un porcentaje de participación real del 90,9%. Este porcentaje es ligeramente superior al del control GR-1A/20 (87,1%) 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/21**, de los 66 centros inscritos en el área de Genotipado de Resistencia 62 remitieron la hoja de respuesta. De ellos, un centro no realizó la determinación por métodos moleculares, por lo que hubo 61 centros con resultados analizables. Así, el porcentaje de participación real fue del 92,4%, ligeramente superior al del control GR-1B/20 (87,1%) en el que también se solicitó la detección genotípica de carbapenemasa en una cepa de *Escherichia coli*.

CONTROL GR-1A/21: DETECCIÓN GENOTÍPICA DE RESISTENCIA A LA METICILINA

Todos los participantes que emitieron resultados valorables excepto uno (59 centros, el 98,3%) obtuvieron un resultado positivo en esta determinación, coincidiendo con el valor asignado. El resultado discrepante correspondía a un centro que informó un resultado negativo.

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

Respecto a los métodos utilizados, la técnica mayoritaria fue la PCR a tiempo real, empleada en 33 de las 60 determinaciones (55,0%), con un predominio de los cartuchos de 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 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</i> / <i>mecC</i>	25 (100,0)	–	25 (41,6)
	BD MAX™ (BD)	<i>mecA</i> / <i>mecC</i> y <i>SCCmec</i> (MREJ)	4 (100,0)	–	4 (6,6)
	GenomEra® (Abacus)	<i>mecA</i> / <i>mecC</i>	1 (100,0)	–	1 (1,7)
	LightCycler® (Roche)	<i>mecA</i>	1 (100,0)	–	1 (1,7)
	Unyvero (Curetis)	<i>mecA</i>	1 (100,0)	–	1 (1,7)
	Desarrollo propio	<i>mecA</i>	1 (100,0)	–	1 (1,7)

GR-1A/21 y GR-1B/21

PCR múltiple + hibridación	AMR Direct Flow Chip (Master Diagnóstica®)	<i>mecA</i>	9 (100,0)	–	9 (15,0)
PCR	Desarrollo propio	<i>mecA</i>	6 (85,7)	1 (14,3)	7 (11,6)
LAMP	eazyplex® (Amplex)	<i>mecA</i>	3 (100,0)	–	3 (5,0)
	Menarini Diagnostics	<i>mecA</i>	1 (100,0)	–	1 (1,7)
Microarray	FilmArray® (bioMérieux)	<i>mecA</i> / <i>mecC</i> y MREJ	3 (100,0)	–	3 (5,0)
PCR múltiple	Desarrollo propio	<i>mecA</i>	1 (100,0)	–	1 (1,7)
Secuenciación	Desarrollo propio	<i>mecA</i>	1 (100,0)	–	1 (1,7)
No informa	No específica	<i>mecA</i>	2 (100,0)	–	2 (3,3)
Total ^b	–	–	59 (98,3)	1 (1,7)	60 (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/21: DETECCIÓN GENOTÍPICA DE CARBAPENEMASA

Todos los 61 centros con resultados valorables (100,0%) informaron de un resultado positivo, coincidiendo con el valor asignado.

En cuanto a las dianas informadas, 60 de los participantes que respondieron (98,4%) detectaron el gen productor de VIM, de los cuales dos especificaron que se trataba de una carbapenemasa VIM-2, un centro de una VIM-2-like y otros dos centros de una VIM-20 (carbapenemasa de la misma familia que VIM-2).

Referente a los métodos utilizados, la técnica mayoritaria fue la PCR a tiempo real, en 31 de las 61 determinaciones (50,8%), con un predominio del Xpert® de Cepheid (37,8%). Estos datos se señalan en la tabla 2.

Tabla 2. Detección genotípica de carbapenemasa según método y marca comercial utilizada.

Método	Marca	Diana	Positivo (% ^a)	Total Número (% ^b)
PCR <i>real-time</i>	Xpert® (Cepheid)	VIM	23 (100,0)	23 (37,8)
	BD MAX™ (BD)	VIM / IMP	2 (100,0)	2 (3,3)
	Allplex™ (Seegene)	VIM	1 (100,0)	1 (1,6)
	CFX96 (Bio-Rad)	VIM	1 (100,0)	1 (1,6)
	RealCycler (Progenie)	VIM	1 (100,0)	1 (1,6)
	Seeplex® (Seegene)	VIM	1 (100,0)	1 (1,6)

GR-1A/21 y GR-1B/21

	Unyvero (Curetis)	VIM	1 (100,0)	1 (1,6)
	Desarrollo propio	VIM	1 (100,0)	1 (1,6)
PCR múltiple + hibridación	Flow Chip (Master Diagnóstica®)	VIM	8 (100,0)	8 (13,2)
	Flow Chip (Master Diagnóstica®)	VIM-2	1 (100,0)	1 (1,6)
	No específica	VIM	1 (100,0)	1 (1,6)
PCR	Desarrollo propio	VIM	4 (100,0)	4 (6,6)
	Desarrollo propio	VIM-2	1 (100,0)	1 (1,6)
	Desarrollo propio	VIM-2-like	1 (100,0)	1 (1,6)
Array	FilmArray® (bioMérieux)	VIM	5 (100,0)	5 (8,2)
LAMP	eazyplex® (Amplex)	VIM	3 (100,0)	3 (5,0)
	Menarini Diagnostics	VIM	1 (100,0)	1 (1,6)
Secuenciación	Desarrollo propio	VIM-20	2 (100,0)	2 (3,3)
PCR múltiple	Desarrollo propio	VIM	1 (100,0)	1 (1,6)
No informa	No específica	VIM	1 (100,0)	1 (1,6)
	No específica	OXA-48	1 (100,0)	1 (1,6)
Total ^b	–	–	61 (100,0)	61 (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*.

UTILIZACIÓN DE UN LABORATORIO EXTERNO

Por lo que respecta a la necesidad de utilizar un laboratorio externo de referencia, ninguno de los laboratorios participantes con resultados analizables en los dos controles lo utilizó.

COMENTARIOS DE LOS PARTICIPANTES

En el primer control, 4 centros comentaron que el sistema comercial utilizado no podía diferenciar *mecA* de *mecC*, mientras que otro centro especificó que la cepa remitida era negativa para el gen *mecC*.

En el segundo control, 6 centros comentaron que la cepa era productora de una metalobetalactamasa tipo VIM, otros 2 centros que su técnica comercial no diferenciaba VIM de IMP, y 1 centro que pertenecía al clon ST175.

GR-1A/21 y GR-1B/21

Madrid, 14 de julio de 2021

 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/21 y GR-1B/21