

ANÁLISIS DE RESULTADOS DE DETECCIÓN GENOTÍPICA DE MECANISMOS DE RESISTENCIA BACTERIANA POR TÉCNICAS MOLECULARES. GR-1A/23y GR-1B/23

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, la detección mediante técnicas de Microbiología Molecular, de los genes implicados en la **resistencia a la metilina** en una cepa de *Staphylococcus aureus* (GR-1A/23) y de **β -lactamasa** en una cepa de *Escherichia coli* (GR-1B/23); así como que formularan los **comentarios y sugerencias** que consideraran 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/23- Detección de resistencia a la metilina mediante PCR simple:** Positiva para el gen *mecA*.
- **GR-1B/23 - Detección de β -lactamasa mediante secuenciación masiva:** Positiva para el gen productor de la β -lactamasa CTX-M-15.

GR-1A/23 y GR-1B/23

PARTICIPACIÓN

En total, se enviaron 71 muestras a los distintos laboratorios inscritos en esta área. En el control **GR-1A/23** hubo 70 centros que remitieron hoja de respuesta. De ellos, uno no realizó, mediante métodos moleculares, la determinación solicitada en este control, por lo que fueron 69 los centros que aportaron algún resultado valorable. Ello supone un porcentaje de participación real del 97,2%, porcentaje superior al del control GR-1A/22 (participación real del 86,8%) 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/23**, de los 71 centros inscritos en el área de Genotipado de Resistencia 68 remitieron la hoja de respuesta. De ellos, 6 centros no efectuaron, por métodos moleculares, la determinación solicitada, por lo que hubo 62 centros con resultados analizables. Así, el porcentaje de participación real fue del 87,3%, superior al del control GR-1B/22(76,5%) en el que también se solicitó la detección genotípica de β -lactamasa en una cepa de *Klebsiella pneumoniae*.

CONTROL GR-1A/23: DETECCIÓN GENOTÍPICA DE LA RESISTENCIA A LA METICILINA

Todos los 69 participantes que emitieron algún resultado valorable (100,0%) obtuvieron un resultado positivo en esta determinación, coincidiendo con el valor asignado.

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 SCC*mec*.

Respecto a los métodos utilizados, la técnica mayoritaria fue la PCR a tiempo real, empleada en 34 de las 69 determinaciones (49,3%), 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)	Total Número (% ^b)
PCR <i>real-time</i>	Xpert® (Cepheid)	<i>mecA</i>	14 (100,0)	14 (20,3)
	Xpert® (Cepheid)	<i>mecA</i> / <i>mecC</i>	11 (100,0)	11 (16,0)
	FilmArray® (bioMérieux)	<i>mecA</i> / <i>mecC</i>	4 (100,0)	4 (5,8)
	RealCyler® (Progenie)	<i>mecA</i>	2 (100,0)	2 (2,9)
	Abbott	No especifica	1 (100,0)	1 (1,4)
	Allplex™ (Seegene)	<i>mecA</i>	1 (100,0)	1 (1,4)
	BD MAX™	<i>mecA</i>	1 (100,0)	1 (1,4)
PCR múltiple +	AMR Direct Flow Chip	<i>mecA</i>	11 (100,0)	11 (16,0)

GR-1A/23 y GR-1B/23

hibridación	(Master Diagnóstica®)			
LAMP	eazyplex® (Amplex)	<i>mecA</i>	10 (100,0)	10 (14,5)
PCR	Desarrollo propio	<i>mecA</i>	7 (100,0)	7 (10,2)
Secuenciación masiva	Illumina	<i>mecA</i>	3 (100,0)	3 (4,4)
PCR + fluorescencia resuelta en el tiempo	GenomEra® (Abacus)	<i>mecA / mecC</i>	2 (100,0)	2 (2,9)
PCR múltiple	No específica	<i>mecA</i>	1 (100,0)	1 (1,4)
No informa	No específica	<i>mecA</i>	1 (100,0)	1 (1,4)
Total ^b	–	–	69 (100,0)	69 (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/23: DETECCIÓN GENOTÍPICA DE β -LACTAMASA

De los 62 centros que respondieron esta prueba con resultados valorables, 58 (93,6%) obtuvieron un resultado positivo, coincidente con el valor asignado. Los resultados discrepantes correspondían a 4 centros (6,4%) que aportaron un resultado negativo. No obstante, de los cuatro participantes que consignaron un resultado negativo, dos de ellos escribieron en el campo Diana 1 de la aplicación “CTX-M”, lo que sugiere un error en la introducción del resultado (es decir, que se haya seleccionado “negativo” en vez de “positivo” en el campo Interpretación).

En cuanto a las dianas informadas, 57 de los 58 centros que introdujeron un resultado positivo (98,3%) detectaron el gen productor de la β -lactamasa CTX-M. De ellos, 11 especificaron que se trataba de la β -lactamasa CTX-M-15, mientras que otros 19 señalaron que pertenecía al grupo CTX-M-1 (que incluye las β -lactamasas 1, 3 y 15). 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 a tiempo real, que fue efectuada por 22 de los centros (el 35,5%). Respecto a las marcas empleadas, hubo una amplia variedad de ellas, con un predominio del eazyplex® de Amplex junto con el panel FilmArray de bioMérieux y 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 <i>real-time</i>	FilmArray® (bioMérieux)	CTX-M	11 (100,0)	–	11 (17,7)
	Allplex™ (Seegene)	CTX-M	4 (80,0)	1 (20,0)	5 (8,1)
	Allplex™ (Seegene)	CTX-M-15	2 (100,0)	–	2 (3,3)
	BD MAX™	CTX-M-1 grupo	1 (100,0)	–	1 (1,6)

GR-1A/23 y GR-1B/23

	Check-Points	CTX-M-1 grupo	1 (100,0)	–	1 (1,6)
	RealCycler® (Progenie)	CTX-M-1 grupo	1 (100,0)	–	1 (1,6)
	Seeplex® (Seegene)		–	1 (100,0)	1 (1,6)
LAMP	eazyplex® (Amplex)	CTX-M-1 grupo	12 (100,0)	–	12 (19,4)
PCR múltiple + hibridación	AMR Flow Chip (Máster D.)	CTX-M	9 (100,0)	–	9 (14,5)
	AMR Flow Chip (Máster D.)	CTX-M-15	1 (100,0)	–	1 (1,6)
	AMR Flow Chip (Máster D.)	No especifica	1 (100,0)	–	1 (1,6)
	No informa	CTX-M	1 (100,0)	–	1 (1,6)
PCR múltiple	Desarrollo propio	CTX-M-15	3 (100,0)	–	3 (4,8)
	Desarrollo propio	CTX-M-1 grupo	2 (100,0)	–	2 (3,3)
	Desarrollo propio	CTX-M	1 (100,0)	–	1 (1,6)
PCR	Desarrollo propio	CTX-M-1 grupo	2 (100,0)	–	2 (3,3)
	Desarrollo propio	CTX-M	1 (100,0)	–	1 (1,6)
	Desarrollo propio	FOX, TEM, SHV y CTXM	–	1 (100,0)	1 (1,6)
Secuenciación masiva	Illumina	CTX-M-15	3 (100,0)	–	3 (4,8)
	Illumina	β-lactamasas	–	1 (100,0)	1 (1,6)
Secuenciación	Desarrollo propio	CTX-M-15	1 (100,0)	–	1 (1,6)
No informa	No especifica	CTX-M-15	1 (100,0)	–	1 (1,6)
Total ^b	–	–	58 (93,6)	4 (6,4)	62 (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, respecto al control GR-1A/23, de los 69 participantes con respuestas valorables, únicamente fue utilizado por un centro (1,4%).

En el control GR-1B/23, de los 62 participantes que emitieron respuestas evaluables, el laboratorio externo fue utilizado por 2 centros (3,3%).

GR-1A/23 y GR-1B/23

COMENTARIOS DE LOS PARTICIPANTES

En el primer control, 3 centros señalaron explícitamente que la cepa de *S. aureus* remitida era portadora del gen *mecA*. Así mismo, hubo 2 participantes que comentaron que la cepa era portadora, además, del gen *ermC* (de resistencia a macrólidos), y 2 más especificaron que la cepa poseía el gen productor de la leucocidina de Pantón-Valentine (LPV).

En el segundo control, 6 laboratorios comentaron explícitamente que la cepa de *E. coli* remitida poseía una β -lactamasa del tipo CTX-M. Hubo 2 centros que mencionaron los distintos tipos de β -lactamasa que habían sido negativos con el método molecular empleado.

Madrid, 22 de mayo de 2023

 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/23 y GR-1B/23