

ANÁLISIS DE RESULTADOS DE DETECCIÓN GENOTÍPICA DE MECANISMOS DE RESISTENCIA BACTERIANA GR-1/16, GR-2/16, GR-3/16 y GR-4/16

En el Análisis de Resultados de estos cuatro controles se analizan los resultados obtenidos en el estudio para la detección genotípica de diversos mecanismos de resistencia bacteriana de las muestras enviadas para controles externos. Cada control consistía de un escobillón, en medio de transporte, 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 CCS. Además, se confirmó la homogeneidad y estabilidad de la muestra a través de ensayos realizados tras la preparación de los liófilos y tras su envío, asegurando así la validez de la misma.

El valor asignado se determinó a partir del consenso de resultados (coincidencia de resultados) aportados por dos laboratorios expertos, quienes 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 carbapenemasa** en una cepa de *Pseudomonas aeruginosa* (GR-1/16), **resistencia a los glucopéptidos** en una cepa de *Enterococcus casseliflavus* (GR-2/16), **resistencia a la meticilina** en una cepa de *Staphylococcus aureus* (GR-3/16), y **β -lactamasas** en una cepa de *Escherichia coli* (GR-4/16); 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-1/16- Detección de carbapenemasa mediante PCR a tiempo real:** Positiva para el gen *bla_{VIM}* y negativa para los genes *bla_{KPC}* y *bla_{OXA-48}* (RealCycler® OXVIKP, Progenie Molecular).
- **GR-2/16- Detección de resistencia a los glucopéptidos mediante PCR convencional:** Positiva para el gen *vanC2* (desarrollo propio).

Programa de Control de Calidad SEIMC • Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica

c/ Agustín de Betancourt, 13. Entrepant. 28003 Madrid • Tel: 91.5310990 • Fax: 91.5227505 • Correo electrónico: ccs@seimc.org

- **GR-3/16- Detección de resistencia a la meticilina mediante PCR convencional:** Positiva para el gen *mecA* (desarrollo propio).
- **GR-4/16- Detección de β -lactamasas mediante secuenciación:** Positiva para el gen *bla_{TEM}* (desarrollo propio).

PARTICIPACIÓN GENERAL

En total, se enviaron 35 muestras a los distintos laboratorios, de los que 26 remitieron hoja de respuesta. De ellos un centro realizó únicamente métodos fenotípicos para determinar el mecanismo de resistencia, por lo que en realidad fueron 25 los centros que aportaron algún resultado valorable, lo que supone un porcentaje de participación real del 71,4%.

CONTROL GR-1/16: DETECCIÓN GENOTÍPICA DE CARBAPENEMASA

La detección del genoma de carbapenemasa en la cepa de *P. aeruginosa* remitida fue realizada por todos los laboratorios que aportaron hoja de respuesta analizable (100,0%). Todas ellas aportaron un resultado positivo, coincidiendo con el valor asignado. Respecto a la diana utilizada, todos los centros detectaron el gen productor de VIM.

En cuanto a los métodos utilizados, la técnica mayoritaria fue la PCR a tiempo real, en 10 de las 25 determinaciones (40,0%), con un predominio del Xpert® de Cepheid (32,0%). La totalidad de los métodos y marcas empleadas se muestra en la tabla 1.

Tabla 1. Detección genotípica de carbapenemasa según método y marca comercial utilizada.

Método	Marca	Diana	Positivo (% ^a)	Total
				Número (% ^b)
PCR <i>real-time</i>	Xpert® (GeneXpert, Cepheid)	VIM	8 (100,0)	8 (32,0)
	RealCycler® (Progenie Molecular)	VIM	2 (100,0)	2 (8,0)
PCR	Desarrollo propio	VIM	4 (100,0)	4 (16,0)
PCR múltiple	Desarrollo propio	VIM	3 (100,0)	3 (12,0)
LAMP	Menarini Diagnostics	VIM	2 (100,0)	2 (8,0)
Secuenciación	Desarrollo propio	VIM	2 (100,0)	2 (8,0)
<i>Microarray</i>	Hain Lifescience	VIM	1 (100,0)	1 (4,0)
PCR múltiple + hibridación	Master Diagnóstica	VIM	1 (100,0)	1 (4,0)
No informa	No específica	VIM	2 (100,0)	2 (8,0)
Total ^b	-	-	25 (100,0)	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; LAMP: *loop mediated isothermal amplification*.

CONTROL GR-2/16: DETECCIÓN GENOTÍPICA DE RESISTENCIA A LOS GLUCOPÉPTIDOS

La detección de los genes de resistencia a glucopéptidos en la cepa de *E. casseliflavus* enviada fue realizada por 11 de los 25 centros que emitieron algún resultado valorable (44,0%). De las 11 determinaciones informadas, 8 (72,7%) fueron positivas para la detección del gen *vanC2*, resultado concordante con el del valor asignado. En cuanto a la diana utilizada, todos los centros con resultado positivo detectaron el gen de resistencia *vanC* (o el *vanC2*). De los 3 resultados que fueron negativos, uno de los centros utilizó cebadores para los genes *vanA* y *vanB*, otro cebadores para los genes *vanA*, *vanB* y *vanC*, aunque señaló que su PCR todavía no estaba puesta a punto, mientras que el centro restante no informó de la diana utilizada.

En cuanto a los métodos utilizados, hubo un ligero predominio de la PCR convencional (27,3%) y de la secuenciación (27,3%). Respecto a las marcas utilizadas, la mayoría fueron de desarrollo propio. El conjunto de los métodos y marcas empleadas se detalla en la tabla 2.

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

Método	Marca	Diana	Pos. (% ^a)	Neg. (% ^a)	Total
					Número (% ^b)
PCR	Desarrollo propio	<i>vanC</i>	2 (67,0)	1 (33,0)	3 (27,3)
Secuenciación	Desarrollo propio	<i>vanC2</i>	3 (100,0)	–	3 (27,3)
PCR múltiple	Magiplex	<i>vanA / vanB</i>	–	1 (100,0)	1 (9,1)
	Desarrollo propio	<i>vanC2</i>	1 (100,0)	–	1 (9,1)
PCR múltiple + hibridación	Master Diagnóstica	NI	–	1 (100,0)	1 (9,1)
PCR <i>real-time</i>	Desarrollo propio	<i>vanC</i>	1 (100,0)	–	1 (9,1)
No informa	No específica	<i>vanC</i>	1 (100,0)	–	1 (9,0)
Total ^b	-	-	8 (72,7)	3 (27,3)	11 (100,0)

^aPorcentaje respecto al número de participantes que usa esa marca.

^bPorcentaje respecto del total de determinaciones.

Abreviaturas. Pos: positivo; Neg: negativo; NI: no informa; PCR: reacción en cadena de la polimerasa.

CONTROL GR-3/16: DETECCIÓN GENOTÍPICA DE LA RESISTENCIA A LA METICILINA

Esta determinación fue realizada por 22 de los 25 centros con resultados evaluables (88,0%). Todas las determinaciones (el 100,0%) fueron positivas para la detección del gen *mecA* en la cepa de *S. aureus* remitida. En cuanto a la diana, la mayoría de las ocasiones se llevó a cabo la detección del gen *mecA* de forma aislada, mientras que dos centros realizaron la detección conjunta de los genes *mecA* y *mecC*.

Respecto a los métodos utilizados, la técnica mayoritaria fue la PCR a tiempo real, en 13 de las 22 determinaciones (59,1%), con un predominio del sistema Xpert® de Cepheid (36,4%). La totalidad de los métodos y marcas empleados por los participantes se muestra en la tabla 3.

Programa de Control de Calidad SEIMC • Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica

c/ Agustín de Betancourt, 13. Entrepunta. 28003 Madrid • Tel: 91.5310990 • Fax: 91.5227505 • Correo electrónico: ccs@seimc.org

Tabla 3. 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® (GeneXpert, Cepheid)	<i>mecA</i> (<i>mecC</i>) ^c	8 (100,0)	8 (36,4)
	Alere	<i>mecA</i>	3 (100,0)	3 (13,7)
	RealCycler® (Progenie Molec.)	<i>mecA</i>	1 (100,0)	1 (4,5)
	Desarrollo propio	<i>mecA</i>	1 (100,0)	1 (4,5)
PCR	Desarrollo propio	<i>mecA</i>	3 (100,0)	3 (13,7)
PCR múltiple	Desarrollo propio	<i>mecA</i>	2 (100,0)	2 (9,1)
Secuenciación	Desarrollo propio	<i>mecA</i>	2 (100,0)	2 (9,1)
LAMP	Menarini Diagnostics	<i>mecA</i>	1 (100,0)	1 (4,5)
PCR múltiple + hibridación	Master Diagnóstica	<i>mecA</i>	1 (100,0)	1 (4,5)
Total ^b	–		22 (100,0)	22 (100,0)

^aPorcentaje respecto al número de participantes que usa esa marca.

^bPorcentaje respecto del total de determinaciones.

^cDos centros realizaron la detección conjunta de *mecA* y *mecC*.

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

CONTROL GR-4/16: DETECCIÓN GENOTÍPICA DE β -LACTAMASA

La detección genotípica de alguna β -lactamasa en la cepa de *E. coli* remitida fue llevada a cabo por 15 de los 25 centros con resultados valorables (60,0%). De estas 15 determinaciones, 11 (73,3%) se informaron como positivas, mientras que las 4 restantes (26,7%) fueron negativas. En cuanto a las dianas que se utilizaron, diez centros detectaron el gen productor de la β -lactamasa TEM (tres de ellos especificaron que se trataba de TEM-1), y un centro detectó el gen productor de GES. Respecto a los 4 centros que obtuvieron un resultado negativo, uno de ellos realizó la detección de CTX-M, otro sólo la detección de carbapenemasas, mientras que los 2 centros restantes no especificaron la diana utilizada.

Por lo que respecta a los métodos utilizados, hubo un ligero predominio de la PCR múltiple (33,3%) seguida de la PCR convencional (26,6%). Respecto a las marcas utilizadas, la mayoría fueron de desarrollo propio. Todos estos datos se muestran en la tabla 4.

Tabla 4. Detección genotípica de la β -lactamasa según método y marca comercial utilizada.

Método	Marca	Diana	Pos. (% ^a)	Neg. (% ^a)	Total
					Número (% ^b)
PCR múltiple	RealCycler® (Progenie)	CTX-M	–	1 (100,0)	1 (6,7)
	Desarrollo propio	TEM	4 (100,0)	–	4 (26,6)

PCR	Desarrollo propio	TEM	3 (100,0)	-	3 (20,0)
	Desarrollo propio	NI	-	1 (100,0)	1 (6,7)
Microarray	Hain Lifescience	TEM	1 (100,0)	-	1 (6,7)
	Hain Lifescience	VIM, KPC, OXA-48	-	1 (100,0)	1 (6,7)
Secuenciación	Desarrollo propio	TEM	2 (100,0)	-	2 (13,3)
PCR múltiple + hibridación	Master Diagnóstica	GES	1 (100,0)	-	1 (6,7)
No informa	bioMérieux	NI	-	1 (100,0)	1 (6,7)
Total ^b	-		11 (73,3)	4 (26,7)	15 (100,0)

^aPorcentaje respecto al número de participantes que usa esa marca.

^bPorcentaje respecto del total de determinaciones.

Abreviaturas. Pos: positivo; Neg: negativo; NI: no informa; PCR: reacción en cadena de la polimerasa.

UTILIZACIÓN DE UN LABORATORIO EXTERNO

De las 25 hojas de respuesta remitidas con resultados analizables, fueron 24 los centros que indicaron que no recurrieron a un laboratorio externo de referencia, lo que supone un porcentaje del 96,0%; mientras que el laboratorio restante indicó que sí lo utilizó de forma parcial (4,0%).

COMENTARIOS DE LOS PARTICIPANTES

Cuatro centros comentaron explícitamente que no disponían de técnicas moleculares para la detección de genes de resistencia a glucopéptidos, mientras que otro centro señaló que su PCR todavía no estaba puesta a punto. Por último, hubo un centro que comentó que *E. casseliflavus* poseía resistencia de bajo nivel a la vancomicina, al tener el gen *vanC2*, por lo que no consideraba necesario hacer una PCR.

Nota.- Todos los comentarios o sugerencias generales, clínicas, microbiológicas o terapéuticas que los participantes han considerado oportunos indicar, no son objeto de evaluación por parte del Programa de Control de Calidad SEIMC.

Madrid, 5 de mayo de 2017

Concepción Gimeno Cardona

Coordinadora del Programa de Control de Calidad SEIMC

Programa de Control de Calidad SEIMC • Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica

c/ Agustín de Betancourt, 13. Entrepant. 28003 Madrid • Tel: 91.5310990 • Fax: 91.5227505 • Correo electrónico: ccs@seimc.org

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 requiere la subcontratación de otras actividades diferentes a las indicadas anteriormente, serán debidamente informadas.