

ANÁLISIS DE RESULTADOS DE DETECCIÓN GENOTÍPICA DE MECANISMOS DE RESISTENCIA BACTERIANA POR TÉCNICAS MOLECULARES. GR-1A/20 y GR-1B/20

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 realizaran, mediante técnicas de diagnóstico molecular, las detecciones de los genes implicados en la **resistencia a la meticilina** en una cepa de *Staphylococcus aureus* (GR-1A/20) y de **carbapenemasa** en una cepa de *Escherichia coli* (GR-1B/20); 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) de cada una de las determinaciones fue el siguiente:

- **GR-1A/20-Detección de resistencia a la meticilina** mediante LAMP: Positiva para el gen *mecC*.
- **GR-1B/20-Detección de carbapenemasa** mediante secuenciación: Positiva para el gen *bla_{OXA-48}*.

PARTICIPACIÓN

En total, se enviaron 62 muestras a los distintos laboratorios, de los que 55 remitieron hoja de respuesta. De ellos, un centro no realizó, mediante métodos moleculares, ninguna de las dos determinaciones solicitadas, por lo que en realidad fueron 54 los participantes que aportaron algún resultado valorable, lo que supone un porcentaje de participación real del 87,1%. Este porcentaje es superior al del último control de genotipos de resistencia, en el que la participación fue del 75,8%.

GR-1AB/20

CONTROL GR-1A/20: DETECCIÓN GENOTÍPICA DE RESISTENCIA A LA METICILINA

Esta determinación fue realizada por 52 de los 54 centros con resultados evaluables (96,3%). De estas 52 determinaciones, 45 se informaron como positivas (86,5%), coincidiendo con el valor asignado, mientras que las 7 determinaciones restantes (13,5%) fueron negativas.

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 otros elementos del casete SCC*mec*. Cabe destacar, que hubo 11 centros con un resultado positivo que especificaron como diana obtenida el gen *mecA*.

Respecto a los métodos utilizados, la técnica mayoritaria fue la PCR a tiempo real, empleada en 23 de las 52 determinaciones (44,3%), con un predominio de los diferentes test del sistema 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 / mecC</i>	8 (100,0)	–	8 (15,3)
	Xpert® (Cepheid)	No se especifica	1 (20,0)	4 (80,0)	5(9,6)
	Xpert® (Cepheid)	<i>mecC</i>	2 (100,0)	–	2 (3,9)
	Xpert® (Cepheid)	<i>mecA</i>	1 (100,0)	–	1 (1,9)
	BD MAX™(BD)	<i>mecA / mecC</i>	3 (100,0)	–	3(5,8)
	GenomEra® (Abacus)	<i>mecA / mecC</i>	1 (100,0)	–	1 (1,9)
	GenomEra® (Abacus)	<i>mecA</i>	1 (100,0)	–	1(1,9)
	LightCycler® (Roche)	<i>mecA</i>	1 (100,0)	–	1 (1,9)
	RealCycler® (Progenie)	<i>mecA</i>	–	1 (100,0)	1(1,9)
Microarray	FilmArray® (bioMérieux)	<i>mecA</i>	6 (100,0)	–	6(11,5)
	FilmArray® (bioMérieux)	<i>mecA / mecC</i>	3 (100,0)	–	3 (5,8)
PCR	Desarrollo propio	<i>mecC</i>	7 (100,0)	–	7 (13,5)
	Desarrollo propio	<i>mecA</i>	1 (50,0)	1 (50,0)	2 (3,9)
LAMP	eazyplex® (Amplex)	<i>mecC</i>	3 (100,0)	–	3 (5,8)
	Menarini Diagnostics	<i>mecC</i>	2 (100,0)	–	2(3,9)
PCR múltiple hibridación	AMR Direct Flow Chip (Master Diagnóstica®)	<i>mecA</i>	2 (100,0)	–	2(3,9)
	AMR Direct Flow Chip (Master Diagnóstica®)	<i>mecC</i>	1 (100,0)	–	1 (1,9)

GR-1AB/20

PCR múltiple	Desarrollo propio	<i>mecC</i>	2 (100,0)	–	2(3,9)
Secuenciación	Desarrollo propio	<i>mecC</i>	1 (100,0)	–	1 (1,9)
Total ^b	–	–	45 (86,5)	7 (13,5)	52 (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, *loopmediatedisothermalamplification*.

CONTROL GR-1B/20: DETECCIÓN GENOTÍPICA DE CARBAPENEMASA

La detección del genoma de carbapenemasa en la cepa de *E. coli* fue realizada por 53 de los 54 laboratorios que aportaron hoja de respuesta analizable (98,2%). Todos ellos aportaron un resultado positivo, coincidiendo con el valor asignado.

Respecto a la diana utilizada, todos los centros que la especificaron detectaron el gen productor de la carbapenemasa OXA-48.

Referente a los métodos empleados, la técnica mayoritaria fue la PCR a tiempo real, en 31 de las 53 determinaciones (58,5%), con un predominio del Xpert® de Cepheid (47,2%). El conjunto de los métodos y marcas empleadas se detalla 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)	OXA-48 ^c	25 (100,0)	25 (47,2)
	BD MAX™	OXA-48	3 (100,0)	3 (5,6)
	LightCycler® (Roche)	OXA-48	1 (100,0)	1 (1,9)
	Allplex™ (Seegene)	OXA-48	1 (100,0)	1 (1,9)
	Seeplex® (Seegene)	OXA-48	1 (100,0)	1 (1,9)
PCR múltiple+ hibridación	AMR Direct Flow Chip (Master Diagnostics®)	OXA-48	6 (100,0)	6 (11,3)
	Nanosphere (Verigene®)	OXA-48	1 (100,0)	1 (1,9)
LAMP	eazyplex® (Amplex)	OXA-48	4 (100,0)	4 (7,5)
	MenariniDiagnostics	OXA-48	2 (100,0)	2 (3,8)
PCR	Desarrollo propio	OXA-48	3 (100,0)	3 (5,6)
		OXA	1 (100,0)	1 (1,9)
<i>Microarray</i>	FilmArray® (bioMérieux)	OXA-48	2 (100,0)	2 (3,8)
Secuenciación	Desarrollo propio	OXA-48	2 (100,0)	2 (3,8)

GR-1AB/20

PCR múltiple	Desarrollo propio	OXA-48	1 (100,0)	1 (1,9)
Total ^b	–	–	53 (100,0)	53 (100,0)

^aPorcentaje respecto al número de participantes que usa esa marca. ^bPorcentaje respecto del total de determinaciones.

^cUn centro no especificó la diana detectada.

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

UTILIZACIÓN DE UN LABORATORIO EXTERNO

Por lo que respecta a la necesidad de utilizar un laboratorio externo de referencia, ninguno de los 54 laboratorios con resultados analizables lo utilizó.

COMENTARIOS DE LOS PARTICIPANTES

Destacar, que tres centros que habían obtenido una PCR negativa para *mecA*, comentaron la probabilidad de que la cepa de *S. aureus* fuera portadora del gen *mecC*.

Madrid, 3 de agosto de 2020



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-1AB/20