

ANÁLISIS DE RESULTADOS DE DETECCIÓN GENOTÍPICA DE MECANISMOS DE RESISTENCIA BACTERIANA POR TÉCNICAS MOLECULARES. GR2A24 y GR2B24

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* (GR2A24) y en la producción de **β -lactamasa de espectro extendido (BLEE)** en una cepa de *Klebsiella pneumoniae* (GR2B24); 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:

- **GR2A24 - Detección de resistencia a la meticilina mediante una PCR de desarrollo propio:** Positiva para el gen *mecA*.
- **GR2B24- Detección de β -lactamasa de espectro extendido mediante secuenciación masiva:** Positiva para el gen productor de CTX-M-15 (adicionalmente también era positiva para SHV-28, aunque el objeto principal del control era la detección de CTX-M).

GR2A24 y GR2B24

PARTICIPACIÓN

En total, se enviaron 74 muestras a los distintos laboratorios inscritos en esta área del Programa. En el control **GR1A24** hubo 66 centros que remitieron hoja de respuesta. De ellos, 3 no realizaron mediante métodos moleculares la determinación solicitada en este control, por lo que fueron 63 los centros que aportaron algún resultado valorable. Ello supone un porcentaje de participación real del 85,1%, porcentaje inferior al del control GR1A23 (participación real del 97,2%), en el que también se solicitó la detección genotípica de la resistencia a la metilina en una cepa de *S. aureus*.

En cuanto al control **GR2B24**, de los 74 centros inscritos en el área de Genotipado de Resistencia 63 remitieron la hoja de respuesta. De ellos, 10 no efectuaron por métodos moleculares la determinación solicitada, por lo que hubo 53 centros con resultados analizables. Así, el porcentaje de participación real fue del 71,6%, inferior al del control GR1B23 (88,7%) en el que también se solicitó la detección genotípica de β -lactamasa en una cepa de *Escherichia coli*.

CONTROL GR1A24: DETECCIÓN GENOTÍPICA DE LA RESISTENCIA A LA METICILINA

Los 63 participantes que emitieron algún resultado evaluable (100,0%) obtuvieron un resultado positivo en esta determinación, coincidiendo con el valor asignado.

En cuanto a la diana, todos 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 31 de las 63 determinaciones (49,2%), 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 metilina según método y marca comercial utilizada.

Método	Marca	Diana	Positivo (% ^a)	Total Número (% ^b)
PCR <i>real-time</i>	Xpert® (Cepheid)	<i>mecA</i>	15 (100,0)	15 (23,8)
	Xpert® (Cepheid)	<i>mecA / mecC</i>	11 (100,0)	11 (17,4)
	FilmArray® (bioMérieux)	<i>mecA / mecC</i>	4 (100,0)	4 (6,3)
	BD MAX™	<i>mecA / mecC</i>	1 (100,0)	1 (1,6)
PCR múltiple + hibridación	Flow Chip (Master Diagnóstica®)	<i>mecA</i>	10 (100,0)	10 (15,9)
LAMP	eazyplex® (Amplex)	<i>mecA</i>	7 (100,0)	7 (11,1)
PCR simple	Desarrollo propio	<i>mecA</i>	6 (100,0)	6 (9,5)

GR2A24 y GR2B24

PCR + fluorescencia resuelta en el tiempo	GenomEra® (Abacus)	<i>mecA / mecC</i>	2 (100,0)	2 (3,2)
PCR isotérmica	Unyvero (Menarini)	<i>mecA</i>	2 (100,0)	2 (3,2)
Secuenciación masiva	Illumina	<i>mecA</i>	2 (100,0)	2 (3,2)
Microarray	No específica	<i>mecA</i>	1 (100,0)	1 (1,6)
PCR múltiple	Desarrollo propio	<i>mecA</i>	1 (100,0)	1 (1,6)
No informa	No específica	<i>mecA</i>	1 (100,0)	1 (1,6)
Total ^b	–	–	63 (100,0)	63 (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 GR2B24: DETECCIÓN GENOTÍPICA DE BLEE

Los 53 centros que informaron esta prueba con resultados valorables obtuvieron un resultado positivo (100,0%), resultado coincidente con el valor asignado.

En cuanto a las dianas informadas, 5 de los 53 centros (el 9,4%) detectaron los genes productores de CTX-M y SHV, otros 45 de los 53 participantes (84,9%) detectaron sólo el gen productor de CTX-M y un centro (1,9%) únicamente el gen productor de SHV. De los 50 centros que detectaron el gen productor de CTX-M, 9 especificaron que se trataba de la β -lactamasa CTX-M-15, 4 respondieron que era del grupo CTX-M-1 (que incluye las β -lactamasas 1, 3 y 15), 7 señalaron que se trataba de una CTX-M-1, y uno que era CTX-M-9. Respecto a los 6 laboratorios que detectaron SHV, 3 especificaron que se trataba de una SHV-28 y otro centro que era una SHV-55. 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 (17 centros, el 32,1%), seguida de la PCR múltiple más hibridación (11 centros, el 20,8%). Respecto a las marcas utilizadas, hubo una amplia variedad de ellas, con un predominio del FilmArray® de bioMérieux junto con las tiras Flow Chip de Máster Diagnóstica®.

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

Método	Marca	Diana	Positivo (% ^a)	Total Número (% ^b)
PCR <i>real-time</i>	FilmArray® (bioMérieux)	CTX-M	11 (100,0)	11 (20,8)
	Allplex™ (Seegene)	CTX-M	3 (100,0)	3 (5,7)
	Alifax	CTX-M	1 (100,0)	1 (1,9)
	Allplex™ (Seegene)	CTX-M-15	1 (100,0)	1 (1,9)
	BD MAX™	CTX-M-1 grupo	1 (100,0)	1 (1,9)

GR2A24 y GR2B24

PCR múltiple + hibridación	Flow Chip (Master Diagnóstica®)	CTX-M ^b	10 (100,0)	10 (18,9)
PCR múltiple + hibridación	Flow Chip (Master Diagnóstica®)	No especifica	1 (100,0)	1 (1,9)
LAMP	eazyplex® (Amplex)	CTX-M-1	5 (100,0)	5 (9,4)
	eazyplex® (Amplex)	CTX-M	1 (100,0)	1 (1,9)
	eazyplex® (Amplex)	CTX-M-15 ^c	1 (100,0)	1 (1,9)
	eazyplex® (Amplex)	No especifica	1 (100,0)	1 (1,9)
PCR simple	Desarrollo propio	CTX-M-1	2 (100,0)	2 (3,7)
	Desarrollo propio	CTX-M-1 grupo	2 (100,0)	2 (3,7)
	Desarrollo propio	CTX-M-15	1 (100,0)	1 (1,9)
	Desarrollo propio	CTX-M	1 (100,0)	1 (1,9)
	Desarrollo propio	TEM+SHV	1 (100,0)	1 (1,9)
Secuenciación masiva	Illumina	CTX-M-15 ^d	4 (100,0)	4 (7,6)
PCR isotérmica	Unyvero (Menarini)	CTX-M-1	2 (100,0)	2 (3,7)
PCR múltiple	Desarrollo propio	CTX-M-1 grupo ^e	1 (100,0)	1 (1,9)
	Desarrollo propio	CTX-M-15 ^f	1 (100,0)	1 (1,9)
No informa	No especifica	CTX-M	2 (100,0)	2 (3,7)
Total ^b	–	–	53 (100,0)	53(100,0)

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

^bUno de ellos también detectó SHV.

^cEste centro detectó también las dianas TEM y SHV.

^dDos de ellos además detectaron SHV-28.

^eEste participante detectó además por secuenciación masiva las dianas: SHV-55, TEM-1, OXA-1.

^fEste participante detectó además las siguientes dianas: TEM-1, SHV-28, y OXA-1.

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, en cuanto al control GR2A24, de los 63 laboratorios participantes con resultados analizables, el laboratorio externo fue utilizado por un único centro (1,6%). En cuanto al control GR2B24, ninguno de los 53 participantes con respuestas valorables hizo uso del mismo.

GR2A24 y GR2B24

COMENTARIOS DE LOS PARTICIPANTES

En el primer control, 3 centros señalaron explícitamente que la cepa de *S. aureus* remitida era portadora del gen *mecA*.

En el segundo control, cuatro centros comentaron explícitamente los tipos de BLEE que habían detectado en sus métodos moleculares (un centro CTX-M-15, otro centro CTX-M-1, otro centro CTX-M-9 y otro centro CTX-M).

Madrid, 4 de diciembre de 2024

 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.

GR2A24 y GR2B24