

ANÁLISIS DE RESULTADOS DE DETECCIÓN GENOTÍPICA DE MECANISMOS DE RESISTENCIA BACTERIANA GR-2A/18 y GR-2B/18

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: **carbapenemasa** en una cepa de *Pseudomonas aeruginosa* (GR-2A/18), y de la **resistencia a los glucopéptidos** en una cepa de *Enterococcus faecium* (GR-2B/18); 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-2A/18 - Detección de carbapenemasa mediante PCR a tiempo real:** Positiva para VIM (RealCycler®, Progenie molecular).
 - **Detección de carbapenemasa mediante PCR cualitativa seguida de secuenciación:** Positiva para VIM-20 (desarrollo propio).
- **GR-2B/18 - Detección de resistencia a los glucopéptidos mediante PCR cualitativa:** Positiva para el gen *vanA* (desarrollo propio).

PARTICIPACIÓN

En total, se enviaron 62 muestras a los distintos laboratorios, de los que 55 remitieron hoja de respuesta. De ellos, dos no realizaron ninguna de las dos determinaciones solicitadas, por lo que en realidad fueron 53 los centros que aportaron algún resultado valorable, lo que supone un porcentaje de participación real del 85,5%. Este porcentaje es superior al del último control de genotipos de resistencia, en el que la participación fue del 74,2%.

CONTROL GR-2A/18: DETECCIÓN GENOTÍPICA DE CARBAPENEMASA

Esta determinación fue realizada por 52 de los 53 centros con resultados evaluables (98,1%). Las 52 determinaciones (100,0%) se informaron como positivas, coincidiendo con el valor asignado.

En cuanto a las dianas informadas, los 52 centros detectaron el gen productor de VIM, de los cuales tres especificaron que se trataba de una VIM-2, otro que era una VIM-20 (pertenecientes ambas al grupo filogenético *bla_{VIM-2}*), y por último un centro comentó que se trataba de una VIM-1. Estos datos se señalan en la tabla 1.

Referente a los métodos utilizados, la técnica mayoritaria fue la PCR a tiempo real, efectuada por 35 de los centros (67,3%), con un claro predominio del sistema Xpert® de Cepheid, utilizado por el 44,3% de los participantes.

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® (Cepheid) | VIM | 22 (100,0) | 22 (42,4) |
| | Xpert® (Cepheid) | VIM-1 | 1 (100,0) | 1 (1,9) |
| | RealCycler (Progenie) | VIM | 5 (100,0) | 5 (9,6) |
| | BD MAX™ (BD) | VIM | 3 (100,0) | 3 (5,8) |
| | Allplex™ (Seegene) | VIM | 1 (100,0) | 1 (1,9) |
| | Hain lifescience | VIM y /o NDM | 1 (100,0) | 1 (1,9) |
| | Roche | VIM | 1 (100,0) | 1 (1,9) |
| | Desarrollo propio | VIM | 1 (100,0) | 1 (1,9) |
| PCR | Desarrollo propio | VIM | 3 (100,0) | 3 (5,8) |
| | Desarrollo propio | VIM-2 | 2 (100,0) | 2 (3,9) |
| | Desarrollo propio | VIM-20 | 1 (100,0) | 1 (1,9) |
| PCR múltiple + hibridación | FLOW CHIP (Master Diagnóstica) | VIM | 5 (100,0) | 5 (9,6) |
| PCR múltiple | Desarrollo propio | VIM | 2 (100,0) | 2 (3,9) |
| | Desarrollo propio | VIM-2 | 1 (100,0) | 1 (1,9) |
| Secuenciación | Desarrollo propio | VIM | 1 (100,0) | 1 (1,9) |
| LAMP | eazyplex® (Amplex) | VIM | 1 (100,0) | 1 (1,9) |

| | | | | |
|--------------------|----------------------|-----|------------|------------|
| | Menarini Diagnostics | VIM | 1 (100,0) | 1 (1,9) |
| Total ^b | – | – | 52 (100,0) | 52 (100,0) |

^aPorcentaje respecto al número de participantes que usa esa marca. ^bPorcentaje respecto del total de determinaciones. Abreviaturas: LAMP, *loop mediated isothermal amplification*; PCR, reacción en cadena de la polimerasa.

CONTROL GR-2B/18: DETECCIÓN GENOTÍPICA DE RESISTENCIA A LOS GLUCOPÉPTIDOS

La determinación de la resistencia a los glucopéptidos por métodos moleculares fue realizada por 35 de los 53 laboratorios que aportaron hoja de respuesta analizable (66,0%). Los 35 participantes aportaron un resultado positivo (100,0%), coincidente con el valor asignado.

Respecto a la diana utilizada, todos los centros detectaron el gen *vanA*, bien de forma aislada o bien junto con el gen *vanB*.

En cuanto a los métodos utilizados, hubo un predominio de la PCR y de la PCR a tiempo real, realizadas cada una por el 28,7% de los participantes. Respecto a las marcas utilizadas, la mayoría fueron de desarrollo propio. El conjunto de los métodos y marcas empleadas se muestra en la tabla 2.

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

| Método | Marca | Diana | Positivo (% ^a) | Total Número (% ^b) |
|----------------------------|---|---------------|----------------------------|--------------------------------|
| PCR | Desarrollo propio | <i>vanA</i> | 9 (100,0) | 9 (25,8) |
| | No específica | <i>vanA</i> | 1 (100,0) | 1 (2,9) |
| PCR <i>real-time</i> | RealCycler® (Progenie) | <i>vanA/B</i> | 3 (100,0) | 3 (8,5) |
| | Xpert® (Cepheid) | <i>vanA</i> | 3 (100,0) | 3 (8,5) |
| | BD MAX™ (BD) | <i>vanA</i> | 2 (100,0) | 2 (5,7) |
| | Seeplex® (Seegene) | <i>vanA</i> | 1 (100,0) | 1 (2,9) |
| | Desarrollo propio | <i>vanA</i> | 1 (100,0) | 1 (2,9) |
| PCR múltiple + hibridación | AMR Direct Flow Chip (Master Diagnóstica) | <i>vanA</i> | 7 (100,0) | 7 (20,0) |
| <i>Microarray</i> | FilmArray® | <i>vanA/B</i> | 3 (100,0) | 3 (8,5) |
| | Unyvero (curetis) | <i>vanA</i> | 1 (100,0) | 1 (2,9) |
| PCR múltiple | Desarrollo propio | <i>vanA</i> | 2 (100,0) | 2 (5,7) |
| Secuenciación | Desarrollo propio | <i>vanA</i> | 2 (100,0) | 2 (5,7) |
| Total ^b | – | – | 35 (100,0) | 35 (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.

UTILIZACIÓN DE UN LABORATORIO EXTERNO

De las 53 hojas de respuesta remitidas con resultados analizables, fueron 50 los centros que indicaron que no recurrieron a un laboratorio externo de referencia, lo que supone un porcentaje del 94,3%; mientras que los 3 laboratorios restantes indicaron que sí lo utilizaron (5,7%), todos ellos de forma parcial.

COMENTARIOS DE LOS PARTICIPANTES

Dos centros comentaron que su técnica empleada no permitía diferenciar los genes *vanA* y *vanB*.

Por último, tres centros comentaron explícitamente que no disponían de técnicas moleculares para la detección de alguno de estos genes de resistencia.

Madrid, 07 de enero de 2019

 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.