

ANÁLISIS DE RESULTADOS DE DETECCIÓN GENOTÍPICA DE MECANISMOS DE RESISTENCIA BACTERIANA GR-2A/19 y GR-2B/19

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 Microbiología Molecular las detecciones de: **resistencia a glucopéptidos** en una cepa de *Enterococcus faecium* (GR-2A/19) y de **β -lactamasa** en una cepa de *Klebsiella pneumoniae* (GR-2B/19); 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/19 - Detección de resistencia a los glucopéptidos mediante PCR a tiempo real:** Positiva para el gen *vanB*.
- **GR-2B/19 - Detección de β -lactamasa mediante LAMP:** Positiva para el gen productor de la β -lactamasa de espectro extendido (BLEE) del grupo CTX-M-1 y productora de carbapenemasa de tipo OXA-48.

PARTICIPACIÓN

En total, se enviaron 62 muestras a los distintos laboratorios, de los que 51 remitieron hoja de respuesta. De ellos, cuatro no realizaron mediante métodos moleculares ninguna de las dos determinaciones solicitadas, por lo que en realidad fueron 47 los centros que aportaron algún resultado valorable, lo que supone un porcentaje de

participación real del 75,8%. Este porcentaje es inferior al del último control de genotipos de resistencia, en el que la participación fue del 91,9%.

CONTROL GR-2A/19: DETECCIÓN GENOTÍPICA DE RESISTENCIA A LOS GLUCOPÉPTIDOS

La determinación de la resistencia a los glucopéptidos por métodos moleculares fue realizada por 42 de los 47 laboratorios que aportaron hoja de respuesta analizable (89,4%). Todos ellos excepto uno (41, el 97,6%) obtuvieron un resultado positivo, coincidiendo con el valor asignado.

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

En cuanto a los métodos informados, las técnicas mayoritarias fueron la PCR a tiempo real, realizada por el 28,6% de los participantes, seguida de la PCR convencional, efectuada por el 26,2% de los mismos. Respecto a las marcas utilizadas, la mayoría fueron de desarrollo propio. El conjunto de los métodos y marcas empleadas se muestra en la tabla 1.

Tabla 1. Detección genotípica de la resistencia a los glucopéptidos según método y marca comercial utilizada.

Método	Marca	Diana	Positivo (% ^a)	Negativo (% ^a)	Total Número (% ^b)
PCR <i>real-time</i>	Allplex™ (Seegene)	<i>vanB</i>	5 (100,0)	–	5 (11,9)
	Xpert® (Cepheid)	<i>vanB</i>	3 (100,0)	–	3 (7,1)
	BD MAX™ (BD)	<i>vanB</i>	1 (100,0)	–	1 (2,4)
	BioGX	<i>vanB</i>	1 (100,0)	–	1 (2,4)
	Progenie molecular	–	–	1 (100,0)	1 (2,4)
	Seeplex® (Seegene)	<i>vanB</i>	1 (100,0)	–	1 (2,4)
PCR	Desarrollo propio	<i>vanB</i>	10 (100,0)	–	10 (23,8)
	No específica	<i>vanB</i>	1 (100,0)	–	1 (2,4)
PCR múltiple + hibridación	AMR Direct Flow Chip (Master Diagnóstica)	<i>vanB</i>	7 (100,0)	–	7 (16,6)
<i>Microarray</i>	FilmArray® (bioMérieux)	<i>vanA/B</i>	5 (100,0)	–	5 (11,9)
	bioMérieux	<i>vanB</i>	1 (100,0)	–	1 (2,4)
PCR múltiple	Unyvero (curetis)	<i>vanB</i>	1 (100,0)	–	1 (2,4)
	Desarrollo propio	<i>vanB</i>	1 (100,0)	–	1 (2,4)
Secuenciación	Desarrollo propio	<i>vanB</i>	2 (100,0)	–	2 (4,7)

LAMP	eazyplex® (Amplex)	vanB	1 (100,0)	–	1 (2,4)
No informa	No especifica	vanB	1 (100,0)	–	1 (2,4)
Total ^b	–	–	41 (97,6)	1 (2,4)	42 (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-2B/19: DETECCIÓN GENOTÍPICA DE β-LACTAMASA

Esta determinación fue realizada por 45 de los 47 centros con resultados evaluables (95,7%). Todas las determinaciones (100,0%) se informaron como positivas, **en concordancia con el valor asignado**.

En cuanto a las dianas informadas, 37 de los 45 participantes (82,2%) detectaron el gen productor de CTX-M, en la mayoría de los casos junto con el gen productor de la carbapenemasa tipo OXA-48. Trece de estos centros especificaron que se trataba de una β-lactamasa del grupo CTX-M-1, mientras que otros 4 señalaron que era del grupo CTX-M-15. Respecto al resto de resultados, hubo 7 laboratorios (15,6%) que detectaron únicamente la OXA-48, mientras que, el laboratorio restante (2,2%) refirió haber obtenido un resultado positivo para β-lactamasa, sin especificar la diana detectada. 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 convencional, efectuada por 17 de los centros (37,8%). Respecto a las marcas utilizadas, la mayoría fueron de desarrollo propio.

Tabla 2. Detección genotípica de β-lactamasa según método y marca comercial utilizada.

Método	Marca	Diana ^c	Positivo (% ^a)	Total Número (% ^b)
PCR <i>real-time</i>	Xpert® (Cepheid)	OXA-48	6 (100,0)	6 (13,4)
	Allplex™ (Seegene)	CTX-M, OXA-48	4 (100,0)	4 (8,9)
	BD MAX™	CTX-M-1	2 (100,0)	2 (4,5)
	Anyplex™ (Seegene)	CTX-M, OXA-48	1 (100,0)	1 (2,2)
	Progenie molecular	CTX-M, OXA	1 (100,0)	1 (2,2)
	Progenie molecular	CTX-M-1, OXA-48	1 (100,0)	1 (2,2)
	Unyvero (curetis)	OXA-48	1 (100,0)	1 (2,2)
	Desarrollo propio	CTX-M, TEM	1 (100,0)	1 (2,2)
PCR	Desarrollo propio	CTX-M-1, OXA-48	2 (100,0)	2 (4,5)
	Desarrollo propio	CTX-M, OXA-48, SHV-18	1 (100,0)	1 (2,2)
	Desarrollo propio	CTX-M	1 (100,0)	1 (2,2)
	Desarrollo propio	CTX-M-1	1 (100,0)	1 (2,2)
	Desarrollo propio	CTX-M-9	1 (100,0)	1 (2,2)

	Desarrollo propio	CTX-M-15, OXA-48	1 (100,0)	1 (2,2)
	Desarrollo propio	CTX-M-1, OXA-48, SHV	1 (100,0)	1 (2,2)
	Desarrollo propio	CTX-M-1, OXA-48, SHV-1	1 (100,0)	1 (2,2)
PCR múltiple + hibridación	AMR Flow Chip (Master Diag.)	CTX-M, OXA-48, SHV	4 (100,0)	4 (8,9)
	AMR Flow Chip (Master Diag.)	CTX-M, OXA-48	3 (100,0)	3 (6,8)
	AMR Flow Chip (Master Diag.)	CTX-M-15, OXA-48	1 (100,0)	1 (2,2)
LAMP	eazyplex® (Amplex)	CTX-M-1, OXA-48	2 (100,0)	2 (4,5)
	eazyplex® (Amplex)	CTX-M-15, OXA-48	1 (100,0)	1 (2,2)
	Menarini Diagnostics	CTX-M-1, OXA-48	1 (100,0)	1 (2,2)
Microarray	FilmArray® (bioMérieux)	CTX-M, OXA-48	2 (100,0)	2 (4,5)
	Monlab	CTX-M-1	1 (100,0)	1 (2,2)
Secuenciación	Desarrollo propio	CTX-M, OXA-48	1 (100,0)	1 (2,2)
PCR múltiple	Desarrollo propio	CTX-M-1, OXA-48	1 (100,0)	1 (2,2)
	Desarrollo propio	CTX-M-15, OXA-48, SHV	1 (100,0)	1 (2,2)
No informa	No especifica	No informa	1 (100,0)	1 (2,2)
Total ^b	–	–	45 (100,0)	45 (100,0)

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

^cPara simplificar la tabla, las respuestas grupo CTX-M-1 y tipo OXA-48 aparecen como CTX-M-1 y OXA-48.

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

UTILIZACIÓN DE UN LABORATORIO EXTERNO

De las 47 hojas de respuesta remitidas con resultados analizables, fueron 44 los centros que indicaron que no recurrieron a un laboratorio externo de referencia, lo que supone un porcentaje del 93,6%; mientras que los 3 laboratorios restantes indicaron que sí lo utilizaron (6,4%), todos ellos sólo parcialmente.

COMENTARIOS DE LOS PARTICIPANTES

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

Otros dos centros especificaron que la cepa, además de CTX, poseía una carbapenemasa tipo OXA.

Por último, dos centros comentaron explícitamente que no disponían de técnicas moleculares para la detección de alguno de estos genes de resistencia, mientras que otros dos señalaron que habían enviado alguna de las pruebas solicitadas a un centro externo.

Madrid, 10 de febrero de 2020



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.