

## ANÁLISIS DE RESULTADOS DE DETECCIÓN GENOTÍPICA DE MECANISMOS DE RESISTENCIA BACTERIANA POR TÉCNICAS MOLECULARES. GR-2A/21 y GR-2B/21

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, la detección de  **$\beta$ -lactamasa** en una cepa de *Escherichia coli* (GR-2A/21) y la detección de la **resistencia a los glucopeptidos** en una cepa de *Enterococcus faecium* (GR-2B/21); 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/21 - Detección de  $\beta$ -lactamasa mediante LAMP:** Positiva para el gen productor de la  $\beta$ -lactamasa del grupo CTX-M-1.
- **GR-2B/21 - Detección de resistencia a los glucopeptidos mediante PCR múltiple seguida de hibridación:** Positiva para el gen *vanB*.

GR-2A/21 y GR-2B/21

## PARTICIPACIÓN

En total, se enviaron 66 muestras a los distintos laboratorios inscritos en esta área. En el control **GR-2A/21** hubo 57 centros que remitieron hoja de respuesta. De ellos, 8 no realizaron, mediante métodos moleculares, la determinación solicitada en este control. Así que en realidad fueron 49 los centros que aportaron algún resultado valorable, lo que supone un porcentaje de participación real del 74,2%. Este porcentaje es ligeramente superior al del control GR-2B/20 (70,5%) en el que también se solicitó la detección genotípica de  $\beta$ -lactamasa en una cepa de *E. coli*.

En cuanto al control **GR-2B/21**, de los 66 centros inscritos en el área de Genotipado de Resistencia 60 remitieron la hoja de respuesta. De ellos, 4 centros no efectuaron por métodos moleculares la determinación solicitada, por lo que hubo 56 centros con resultados analizables. Así, el porcentaje de participación real fue del 84,8%, superior al del control GR-2A/20 (68,9%) en el que también se solicitó la detección genotípica de glucopéptidos en una cepa de *E. faecium*.

## CONTROL GR-2A/21: DETECCIÓN GENOTÍPICA DE $\beta$ -LACTAMASA

Todos los participantes con resultados valorables (100,0%) obtuvieron un resultado positivo en esta determinación, coincidiendo con el valor asignado.

En cuanto a las dianas informadas, 47 de los 49 centros (el 95,9%) detectaron el gen productor de la  $\beta$ -lactamasa CTX-M. De ellos, 8 especificaron que se trataba de la  $\beta$ -lactamasa CTX-M-15, mientras que otros 15 señalaron que pertenecía al grupo CTX-M-1 (que incluye las  $\beta$ -lactamasas 1, 3 y 15). El conjunto de los resultados informados se detalla en la tabla 1.

Por lo que respecta a los métodos utilizados hubo un ligero predominio de la PCR múltiple más hibridación, que fue efectuada por 11 de los centros (22,4%). Respecto a las marcas utilizadas, hubo una amplia variedad de ellas, con un predominio del Flow Chip de Máster Diagnóstica® junto con reactivos de PCR de desarrollo propio.

**Tabla 1. Detección genotípica de  $\beta$ -lactamasa según método y marca comercial utilizada.**

Método	Marca	Diana	Positivo (% <sup>a</sup> )	Total Número (% <sup>b</sup> )
PCR múltiple + hibridación	Flow Chip (Master Diagnóstica®)	CTX-M	11 (100,0)	11 (22,4)
Array	FilmArray® (bioMérieux)	CTX-M	7 (100,0)	7 (14,3)
	FilmArray® (bioMérieux)	VIM	1 (100,0)	1 (2,0)
	FilmArray® (bioMérieux)	No especifica	1 (100,0)	1 (2,0)
PCR <i>real-time</i>	Allplex™ (Seegene)	CTX-M	2 (100,0)	2 (4,1)
	Allplex™ (Seegene)	CTX-M-15	2 (100,0)	2 (4,1)

GR-2A/21 y GR-2B/21

	BD MAX™ (BD)	CTX-M-1	2 (100,0)	2 (4,1)
	Desarrollo propio	CTX-M	1 (100,0)	1 (2,0)
LAMP	eazyplex® (Amplex)	CTX-M-1 grupo	6 (100,0)	6 (12,3)
	Menarini Diagnostics	CTX-M-1	1 (100,0)	1 (2,0)
PCR simple	Desarrollo propio	CTX-M-1 grupo	3 (100,0)	3 (6,2)
	Desarrollo propio	CTX-M-15	2 (100,0)	2 (4,1)
	Desarrollo propio	CTX-M	1 (100,0)	1 (2,0)
Secuenciación	Desarrollo propio	CTX-M-15	3 (100,0)	3 (6,2)
	Desarrollo propio	CTX-M-1 grupo	1 (100,0)	1 (2,0)
PCR múltiple	Desarrollo propio	CTX-M-1 grupo	2 (100,0)	2 (4,1)
	Desarrollo propio	CTX-M	1 (100,0)	1 (2,0)
No informa	No específica	CTX-M	2 (100,0)	2 (4,1)
Total <sup>b</sup>	–	–	49 (100,0)	49 (100,0)

<sup>a</sup>Porcentaje respecto al número de participantes que usa esa marca. <sup>b</sup>Porcentaje respecto del total de determinaciones. Abreviaturas: PCR, reacción en cadena de la polimerasa. LAMP, *loop mediated isothermal amplification*.

## CONTROL GR-2B/21: DETECCIÓN GENOTÍPICA DE RESISTENCIA A LOS GLUCOPÉPTIDOS

Todos los 56 participantes que emitieron algún resultado evaluable excepto uno (55 centros, el 98,2%) obtuvieron un resultado positivo en esta determinación, coincidiendo con el valor asignado. El resultado discrepante correspondía a un laboratorio que informó un resultado negativo.

Respecto a la diana utilizada, 51 de estos 55 centros detectaron el gen *vanB*, bien de forma aislada o bien junto con el gen *vanA*.

En cuanto a los métodos informados, hubo un predominio de la PCR a tiempo real, realizada por el 28,6% de los participantes. Respecto a las marcas utilizadas, las más frecuentemente informadas fueron el FilmArray® de bioMérieux, seguido del del AMR Direct Flow Chip de Máster Diagnóstica® y del Allplex™ de Seegene. El conjunto de los métodos y marcas empleadas se muestra en la tabla 2.

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

Método	Marca	Diana	Positivo (% <sup>a</sup> )	Negativo (% <sup>a</sup> )	Total Número (% <sup>b</sup> )
PCR <i>real-time</i>	Allplex™ (Seegene)	<i>vanB</i>	7 (100,0)	–	7 (12,5)
	Xpert® (Cepheid)	<i>vanB</i>	4 (100,0)	–	4 (7,1)
	RealCycler® (Progenie)	<i>vanA/B</i>	1 (100,0)	–	1 (1,8)

GR-2A/21 y GR-2B/21

	Seeplex® (Seegene)	vanA	1 (100,0)	–	1 (1,8)
	Xpert® (Cepheid)	vanA	1 (100,0)	–	1 (1,8)
	Xpert® (Cepheid)	vanA/vanB	1 (100,0)	–	1 (1,8)
	Desarrollo propio	vanB	1 (100,0)	–	1 (1,8)
<i>Microarray</i>	FilmArray® (bioMérieux)	vanA/B	12 (100,0)	–	12 (21,3)
PCR múltiple + hibridación	AMR Direct Flow Chip (Master Diagnóstica)	vanB	8 (88,9)	1 (11,1)	9 (16,0)
	AMR Direct Flow Chip (Master Diagnóstica)	vanA	1 (100,0)	–	1 (1,8)
PCR simple	Desarrollo propio	vanB	7 (100,0)	–	7 (12,5)
LAMP	eazyplex® (Amplex)	vanB	3 (100,0)	–	3 (5,4)
PCR múltiple	Desarrollo propio	vanB	3 (100,0)	–	3 (5,4)
Secuenciación	Desarrollo propio	vanB	3 (100,0)	–	3 (5,4)
No informa	No especifica	vanB	1 (100,0)	–	1 (1,8)
	No especifica	No especifica	1 (100,0)	–	1 (1,8)
Total <sup>b</sup>	–	–	55 (98,2)	1 (1,8)	56 (100,0)

<sup>a</sup>Porcentaje respecto al número de participantes que usa esa marca. <sup>b</sup>Porcentaje respecto del total de determinaciones.  
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 GR-2A/21, ninguno de los 49 laboratorios participantes con resultados analizables lo utilizó. En el control GR-2B/21, de los 56 participantes con respuestas valorables, el laboratorio externo fue utilizado por un único centro (1,8%).

## COMENTARIOS DE LOS PARTICIPANTES

En el primer control, 4 centros señalaron que detectaron adicionalmente el gen productor de una  $\beta$ -lactamasa de la familia TEM.

En el segundo control, 2 centros comentaron que la cepa presentaba un fenotipo de resistencia VanB.

GR-2A/21 y GR-2B/21

Madrid, 1 de diciembre de 2021

 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.

GR-2A/21 y GR-2B/21