

## ANÁLISIS DE RESULTADOS DE DETECCIÓN GENOTÍPICA DE MECANISMOS DE RESISTENCIA BACTERIANA POR TÉCNICAS MOLECULARES. GR-2A/20 y GR-2B/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, por técnicas de Microbiología Molecular, las detecciones de **resistencia a los glucopeptidos** en una cepa de *Enterococcus faecium* (GR-2A/20) y de producción de  **$\beta$ -lactamasa de espectro extendido** en una cepa de *Escherichia coli* (GR-2B/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) para cada una de las determinaciones fue el siguiente:

- **GR-2A/20 - Detección de resistencia a los glucopeptidos mediante PCR a tiempo real:** Positiva para el gen *vanA*.
- **GR-2B/20 - Detección de  $\beta$ -lactamasa mediante LAMP:** Positiva para el gen productor de la  $\beta$ -lactamasa CTX-M (CTX-M grupo 9).

### PARTICIPACIÓN

GR-2A/20 y GR-2B/20 (mod)

En total, se enviaron 61 muestras a los distintos laboratorios inscritos en esta área. En el control **GR-2A/20** hubo 51 centros que remitieron hoja de respuesta. De ellos, nueve no realizaron, mediante métodos moleculares, la determinación solicitada. Así, en realidad fueron 42 los centros que aportaron algún resultado valorable, lo que supone un porcentaje de participación real del 68,9%. Este porcentaje es moderadamente inferior al del control GR-2A/19 (75,8%) en el que también se solicitó la detección genotípica de la resistencia a los glucopéptidos.

Respecto al control **GR-2B/20**, de los 61 centros inscritos 49 remitieron la hoja de respuesta. De ellos, seis no efectuaron, por métodos moleculares, la determinación solicitada, por lo que hubo 43 centros con resultados analizables. Así, el porcentaje de participación real fue del 70,5%, ligeramente inferior al del control GR-2B/19 (75,8%) en el que también se solicitó la detección genotípica de  $\beta$ -lactamasa.

## CONTROL GR-2A/20: DETECCIÓN GENOTÍPICA DE RESISTENCIA A LOS GLUCOPÉPTIDOS

Todos los participantes con resultados valorables (42, el 100,0%) obtuvieron un resultado positivo en esta determinación, coincidiendo con el valor asignado. Respecto a la diana utilizada, todos ellos detectaron el gen *vanA*, bien de forma aislada o bien junto con el gen *vanB*.

En cuanto a los métodos informados, hubo un predominio de la PCR a tiempo real, realizada por el 38,1% de los participantes. Respecto a las marcas utilizadas, las más frecuentemente informadas fueron el FilmArray® de bioMérieux, seguido del Allplex™ de Seegene, del AMR Direct Flow Chip de Máster Diagnóstica y del Xpert® de Cepheid. El conjunto de los métodos y marcas empleadas se muestra en la tabla 1.

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

Método	Marca	Diana	Positivo (% <sup>a</sup> )	Total Número (% <sup>b</sup> )
PCR <i>real-time</i>	Allplex™ (Seegene)	<i>vanA</i>	7 (100,0)	7 (16,6)
	Xpert® (Cepheid)	<i>vanA</i>	6 (100,0)	6 (14,3)
	RealCycler® (Progenie)	<i>vanA/B</i>	1 (100,0)	1 (2,4)
	Desarrollo propio	<i>vanA</i>	2 (100,0)	2 (4,7)
Microarray	FilmArray® (bioMérieux)	<i>vanA/B</i>	8 (100,0)	8 (19,0)
PCR	Desarrollo propio	<i>vanA</i>	7 (100,0)	7 (16,7)
PCR múltiple + hibridación	AMR Direct Flow Chip (Master Diagnóstica)	<i>vanA</i>	7 (100,0)	7 (16,7)
LAMP	eazyplex® (Amplex)	<i>vanA</i>	1 (100,0)	1 (2,4)
	Desarrollo propio	<i>vanA</i>	1 (100,0)	1 (2,4)
PCR múltiple	Desarrollo propio	<i>vanA</i>	1 (100,0)	1 (2,4)

GR-2A/20 y GR-2B/20 (mod)

Secuenciación	Applied Biosystems	<i>vanA</i>	1 (100,0)	1 (2,4)
Total <sup>b</sup>	–	–	42 (100,0)	42 (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/20: DETECCIÓN GENOTÍPICA DE $\beta$ -LACTAMASA

De los 43 centros que informaron esta prueba con resultados valorables, 40 (93,0%) obtuvieron un resultado positivo, resultado coincidente con el valor asignado. Los resultados discrepantes correspondían a 3 centros que informaron un resultado negativo.

En cuanto a las dianas informadas, 36 de los 43 participantes (83,7%) detectaron el gen productor de CTX-M. Once de estos centros especificaron que se trataba de una  $\beta$ -lactamasa grupo CTX-M-9, mientras que otros 4 señalaron que era CTX-M-14 (los genes *bla*<sub>CTX-M-9</sub> y *bla*<sub>CTX-M-14</sub> pertenecen al grupo CTX-M-9). 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, efectuada por 11 de los centros (25,6%). Respecto a las marcas utilizadas, hubo una amplia variedad de marcas, si bien la mayoría fueron de desarrollo propio.

**Tabla 2. Detección genotípica de  $\beta$ -lactamasa 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)	CTX-M <sup>c</sup>	5 (100,0)	–	5 (11,7)
	BD MAX™	CTX-M-9	1 (100,0)	–	1 (2,3)
	Check-Points	CTX-M-9	1 (100,0)	–	1 (2,3)
	Xpert® (Cepheid)	Carbapenemasas	–	1 (100,0)	1 (2,3)
	Xpert® (Cepheid)	No específica	1 (100,0)	–	1 (2,3)
	Desarrollo propio	CTX-M-9	1 (100,0)	–	1 (2,3)
	Desarrollo propio	CTX-M	1 (100,0)	–	1 (2,3)
PCR	Desarrollo propio	CTX-M-9	4 (100,0)	–	4 (9,3)
	Desarrollo propio	CTX-M	3 (100,0)	–	3 (7,0)
	Desarrollo propio	TEM	1 (100,0)	–	1 (2,3)
	Desarrollo propio	No específica	–	1 (100,0)	1 (2,3)
Microarray	FilmArray® (bioMérieux)	CTX-M	4 (100,0)	–	4 (9,3)
	FilmArray® (bioMérieux)	No específica	1 (100,0)	–	1 (2,3)
	Monlab	CTX-M	1 (100,0)	–	1 (2,3)

GR-2A/20 y GR-2B/20 (mod)

	Unyvero	CTX-M, carbapenemasas	–	1 (100,0)	1 (2,3)
PCR múltiple hibridación	+ AMR Flow Chip (Máster Diag.)	CTX-M <sup>d</sup>	7 (100,0)	–	7 (16,3)
LAMP	Menarini Diagnostics	CTX-M-9	3 (100,0)	–	3 (7,0)
	eazyplex® (Amplex)	CTX-M-1	1 (100,0)	–	1 (2,3)
Secuenciación	Applied	CTX-M-14	2 (100,0)	–	2 (4,7)
	Desarrollo propio	CTX-M-14	1 (100,0)	–	1 (2,3)
PCR múltiple	Desarrollo propio	OXA	1 (100,0)	–	1 (2,3)
No informa	No específica	CTX-M	1 (100,0)	–	1 (2,3)
Total <sup>b</sup>	–	–	40 (93,0)	3 (7,0)	43 (100,0)

<sup>a</sup>Porcentaje respecto al número de participantes que usa esa marca. <sup>b</sup>Porcentaje respecto del total de determinaciones.

<sup>c</sup>Un centro informó CTX-M-15.

<sup>d</sup>Un centro informó CTX-M-9 y otro CTX-M-14.

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, ninguno de los laboratorios participantes en alguno de estos dos controles con resultados analizables lo utilizó.

## COMENTARIOS DE LOS PARTICIPANTES

Un centro que informó que la diana detectada era *vanA/vanB* mediante FilmArray® comentó que probablemente se trataba de un gen *vanA* al ser resistente tanto a la vancomicina como a la teicoplanina. Otro centro señaló que había utilizado dos sistemas comerciales diferentes en la detección de  $\beta$ -lactamasa, y que en uno de ellos había obtenido un resultado positivo para CTX-M grupo 9.

### MODIFICACIONES INFORME

Fecha de modificación: 25/06/2021, sustituye al AR GR-2B/20 (01/03/2021), el resultado de la técnica LAMP fue CTX-M-grupo 9

GR-2A/20 y GR-2B/20 (mod)

Madrid, 25 de junio de 2021

  
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/20 y GR-2B/20 (mod)