

## ANÁLISIS DE RESULTADOS DE DETECCIÓN GENOTÍPICA DE MECANISMOS DE RESISTENCIA BACTERIANA POR TÉCNICAS MOLECULARES. GR-2A/22y GR-2B/22

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 los genes productores de **carbapenemasa** en una cepa de *Pseudomonas aeruginosa* (GR-2A/22) y la detección de los genes implicados en la **resistencia a los glucopéptidos** en una cepa de *Enterococcus faecium* (GR-2B/22); 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/22 - Detección de carbapenemasa mediante secuenciación masiva:** Positiva para el gen productor de VIM-2 (*bla<sub>VIM-2</sub>*).
- **GR-2B/22 - Detección de resistencia a los glucopéptidos mediante PCR múltiple:** Positiva para el gen *vanA*.

GR-2A/22 y GR-2B/22

## PARTICIPACIÓN

En total, se enviaron 68 muestras a los distintos laboratorios inscritos en esta área. En el control **GR-2A/22** hubo 62 centros que remitieron la hoja de respuesta. De ellos, uno no realizó, mediante métodos moleculares, la determinación solicitada en este control, por lo que en realidad fueron 61 los centros que aportaron algún resultado valorable. Ello supone un porcentaje de participación real del 89,7%, porcentaje similar al del control GR-1B/21 (92,4%) en el que también se solicitó la detección genotípica de carbapenemasa en *P. aeruginosa*.

En cuanto al control **GR-2B/22**, de los 68 centros inscritos en esta área 61 remitieron la hoja de respuesta. De ellos, 5 no efectuaron, por métodos moleculares, la prueba solicitada, por lo que hubo 56 centros con resultados analizables. Así, el porcentaje de participación real fue del 82,4%, similar al del control GR-2B/21 (84,8%) en el que también se solicitó la detección genotípica de resistencia a gluco péptidos en una cepa de *E. faecium*.

## CONTROL GR-2A/22: DETECCIÓN GENOTÍPICA DE CARBAPENEMASA

De los 61 participantes que emitieron resultados valorables, 60 (98,4%) consignaron un resultado positivo para esta determinación, coincidiendo con el valor asignado. El resultado discrepante correspondía a un centro (1,6%) que obtuvo un resultado negativo.

En cuanto a las dianas informadas, todos los centros que emitieron un resultado positivo (100,0%) detectaron el gen productor de VIM, de los cuales ocho especificaron que se trataba de una carbapenemasa de tipo VIM-2 y otro señaló que pertenecía al grupo VIM-2.

Referente a los métodos utilizados, la técnica mayoritaria fue la PCR a tiempo real, en 37 de las 61 determinaciones (60,7%), con un predominio del equipo Xpert® de Cepheid (36,0%). Estos datos se muestran en la tabla 1.

**Tabla 1. Detección genotípica de carbapenemasa 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>	Xpert® (Cepheid)	VIM	21(95,5)	1 (4,5)	22 (36,0)
	FilmArray® (bioMérieux)	VIM	5 (100,0)	–	5 (8,2)
	Allplex™ (Seegene)	VIM	3 (100,0)	–	3 (5,0)
	Unyvero (Curetis, Menarini)	VIM	2 (100,0)	–	2 (3,3)
	BD MAX™	VIM	1 (100,0)	–	1 (1,6)
	Seeplex® (Seegene)	VIM	1 (100,0)	–	1 (1,6)
	Desarrollo propio	VIM	2 (100,0)	–	2 (3,3)
	Desarrollo propio	VIM-2grupo	1 (100,0)	–	1 (1,6)

GR-2A/22 y GR-2B/22

PCR múltiple + hibridación	Flow Chip (Master Diagnóst.)	VIM	7 (100,0)	–	7 (11,5)
	Flow Chip (Master Diagnóst.)	VIM-2	2 (100,0)	–	2 (3,3)
LAMP	eazyplex® (Amplex)	VIM	5 (100,0)	–	5 (8,2)
	Desarrollo propio	VIM	1 (100,0)	–	1 (1,6)
PCR múltiple	Desarrollo propio	VIM-2	3 (100,0)	–	3 (5,0)
	Desarrollo propio	VIM	1 (100,0)	–	1 (1,6)
PCR simple	Desarrollo propio	VIM	2 (100,0)	–	2 (3,3)
	Desarrollo propio	VIM-2	1 (100,0)	–	1 (1,6)
Secuenciación	Desarrollo propio	VIM-2	2 (100,0)	–	2 (3,3)
Total <sup>b</sup>	–	–	60 (98,4)	1 (1,6)	61 (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/22: DETECCIÓN GENOTÍPICA DE RESISTENCIA A LOS GLUCOPÉPTIDOS

Todos los 56 participantes que emitieron algún resultado evaluable obtuvieron un resultado positivo en esta determinación, coincidiendo con el valor asignado.

Respecto a la diana utilizada, 45 centros detectaron el gen *vanA* de forma aislada, y 10 detectaron el gen *vanA* junto con el gen *vanB*.

En cuanto a los métodos informados, hubo un predominio de la PCR a tiempo real, realizada por el 51,8% de los participantes. Respecto a las marcas utilizadas, las más frecuentemente informadas fueron FilmArray® de bioMérieux junto con AMR Direct Flow Chip de Máster Diagnóstica®. El conjunto de los métodos y marcas empleadas se muestran 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> )	Total Número (% <sup>b</sup> )
PCR <i>real-time</i>	FilmArray® (bioMérieux)	<i>vanA/B</i>	10 (100,0)	10 (17,8)
	Allplex™ (Seegene)	<i>vanA</i>	7 (100,0)	7 (12,5)
	Xpert® (Cepheid)	<i>vanB</i>	7 (100,0)	7 (12,5)
	Seeplex® (Seegene)	<i>vanA</i>	2 (100,0)	2 (3,6)
	Unyvero (Curetis)	<i>vanA</i>	1 (100,0)	1 (1,8)
	Desarrollo propio	<i>vanA</i>	2 (100,0)	2 (3,6)
PCR múltiple +	AMR Direct Flow Chip	<i>vanA</i>	10 (100,0)	10 (17,8)

GR-2A/22 y GR-2B/22

hibridación	(Master Diagnóstica)			
LAMP	eazyplex® (Amplex)	vanA	6 (100,0)	6 (10,7)
	Desarrollo propio	vanA	1 (100,0)	1 (1,8)
PCR simple	Desarrollo propio	vanA	5 (100,0)	5 (8,9)
PCR múltiple	Desarrollo propio	vanA	2 (100,0)	2 (3,6)
	Desarrollo propio	vanB	1 (100,0)	1 (1,8)
Secuenciación	Desarrollo propio	vanA	1 (100,0)	1 (1,8)
Secuenciación masiva	Illumina	vanA	1 (100,0)	1 (1,8)
Total <sup>b</sup>	–	–	56 (100,0)	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/22, de los 61 laboratorios participantes con resultados analizables hubo un único centro que sí lo utilizó (1,6%), aunque fue de forma parcial. Así mismo, en el control GR-2B/22, de los 56 participantes con respuestas valorables, el laboratorio externo fue utilizado por un único centro (1,8%).

## COMENTARIOS DE LOS PARTICIPANTES

En el control de carbapenemasa, 2 centros especificaron que realizaron adicionalmente un estudio de secuenciación, detectándose una carbapenemasa de tipo VIM-2. En el otro control, 3 centros comentaron que si bien el sistema comercial que habían utilizado no diferenciaba el gen *vanA* del gen *vanB*, probablemente la cepa era portadora del gen *vanA* ya que presentaba resistencia a la vancomicina y a la teicoplanina.

Madrid, 5 de diciembre de 2022



  
 C/ Agustín de Betancourt, 13  
 Entreplanta - 28003 Madrid  
 NIF: G-78387057

GR-2A/22 y GR-2B/22

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/22 y GR-2B/22