

ANÁLISIS DE RESULTADOS DE DETECCIÓN GENOTÍPICA DE MECANISMOS DE RESISTENCIA BACTERIANA POR TÉCNICAS MOLECULARES. GR-2A/23y GR-2B/23

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 implicados en la **resistencia a los glucopéptidos** en una cepa de *Enterococcus faecium* (GR-2A/23) y la detección de los genes productores de **carbapenemasa** en una cepa de *Klebsiella pneumoniae* (GR-2B/23); 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/23- Detección de resistencia a los glucopéptidos mediante una PCR simple de desarrollo propio:** Positiva para el gen *vanA*.
- **GR-2B/23 - Detección de carbapenemasa mediante secuenciación masiva:** Positiva para el gen productor de VIM-1 (*bla_{VIM-1}*).

GR-2A/23 y GR-2B/23

PARTICIPACIÓN

En total, se enviaron 71 muestras a los distintos laboratorios inscritos en esta área. En el control **GR-2A/23** hubo 65 centros que remitieron hoja de respuesta. De ellos, 4 no efectuaron, por métodos moleculares, la prueba solicitada, por lo que hubo 61 centros con resultados analizables. Así, el porcentaje de participación real fue del 85,9%, similar al del control GR-2B/22 (82,4%) en el que también se solicitó la detección genotípica de la resistencia a los glucopéptidos en una cepa de *E. faecium*.

En cuanto al control **GR-2B/23**, de los 71 centros inscritos a esta área 66 remitieron la hoja de respuesta. De ellos, hubo un centro que no realizó mediante métodos moleculares la prueba solicitada, con lo que hubo un total de 65 resultados valorables. Ello supone un porcentaje de participación real del 91,5%, porcentaje similar al del control GR-2A/22 (89,7%), en el que también se solicitó la detección genotípica de carbapenemasa en una cepa de *Pseudomonas aeruginosa*.

CONTROL GR-2A/23: DETECCIÓN GENOTÍPICA DE RESISTENCIA A LOS GLUCOPÉPTIDOS

Los 61 participantes que emitieron algún resultado evaluable (100,0%) obtuvieron un resultado positivo en esta determinación, coincidiendo con el valor asignado.

Respecto a la diana utilizada, 52 de estos 61 centros detectaron el gen *vanA* de forma aislada y los otros 9 laboratorios 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 47,6% de los participantes. Respecto a las marcas utilizadas, las más frecuentemente informadas fueron los paneles FilmArray® de bioMérieux junto con las tiras Flow Chip de Master Diagnostica®. El conjunto de los métodos y marcas empleadas se muestran 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)	Total Número (% ^b)
PCR <i>real-time</i>	FilmArray® (bioMérieux)	<i>vanA/B</i>	9 (100,0)	9 (14,8)
	Xpert® (Cepheid)	<i>vanA</i>	9 (100,0)	9 (14,8)
	Allplex™ (Seegene)	<i>vanA</i>	5 (100,0)	5 (8,2)
	FilmArray® (bioMérieux)	<i>vanA</i>	5 (100,0)	5 (8,2)
	No informa	<i>vanA</i>	1 (100,0)	1 (1,6)
PCR múltiple + hibridación	Flow Chip (Master Diagnostica®)	<i>vanA</i>	12 (100,0)	12 (19,7)
LAMP	eazyplex® (Amplex)	<i>vanA</i>	8 (100,0)	8 (13,1)

GR-2A/23 y GR-2B/23

PCR simple	Desarrollo propio	<i>vanA</i>	6 (100,0)	6 (9,8)
Secuenciación	Desarrollo propio	<i>vanA</i>	3 (100,0)	3 (4,9)
Secuenciación masiva	Illumina	<i>vanA</i>	2 (100,0)	2 (3,3)
PCR múltiple	No especifica	<i>vanA</i>	1 (100,0)	1 (1,6)
Total ^b	–	–	61 (100,0)	61 (100,0)

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

CONTROL GR-2B/23: DETECCIÓN GENOTÍPICA DE CARBAPENEMASA

Todos los 65 participantes que emitieron resultados valorables (100,0%) consignaron un resultado positivo para esta determinación, coincidiendo con el valor asignado.

En cuanto a las dianas informadas, todos los 65 centros detectaron el gen productor de VIM, de los cuales once de ellos especificaron que se trataba de una carbapenemasa de tipo VIM-1.

Respecto a los métodos utilizados, la técnica mayoritaria fue la PCR a tiempo real, en un 52,3% de las determinaciones, con un predominio de los cartuchos Xpert® de Cepheid. Estos datos se señalan en la tabla 2.

Tabla 2. Detección genotípica de carbapenemas según método y marca comercial utilizada.

Método	Marca	Diana	Positivo (% ^a)	Total Número (% ^b)
PCR <i>real-time</i>	Xpert® (Cepheid)	VIM	21 (100,0)	21 (32,3)
	FilmArray® (bioMérieux)	VIM	6 (100,0)	6 (9,3)
	Allplex™ (Seegene)	VIM	5 (100,0)	5 (7,7)
	Menarini Diagnostics	VIM	1 (100,0)	1 (1,5)
	Desarrollo propio	VIM-1	1 (100,0)	1 (1,5)
PCR múltiple + hibridación	Flow Chip (Master Diagnóstica®)	VIM	10 (100,0)	10 (15,3)
LAMP	eazyplex® (Amplex)	VIM	8 (100,0)	8 (12,3)
PCR múltiple	Desarrollo propio	VIM-1	2 (100,0)	2 (3,1)
	Desarrollo propio	VIM	1 (100,0)	1 (1,5)
PCR simple	Desarrollo propio	VIM-1	2 (100,0)	2 (3,1)
	Desarrollo propio	VIM	1 (100,0)	1 (1,5)

GR-2A/23 y GR-2B/23

Secuenciación	Desarrollo propio	VIM-1	3 (100,0)	3 (4,7)
Secuenciación masiva	llumina	VIM-1	3 (100,0)	3 (4,7)
No informa	No informa	VIM	1 (100,0)	1 (1,5)
Total ^b	–	–	65 (100,0)	65 (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*.

UTILIZACIÓN DE UN LABORATORIO EXTERNO

Por lo que respecta a la necesidad de utilizar un laboratorio externo de referencia, respecto al control GR-2A/23, de los 61 participantes con respuestas valorables fue utilizado por 3 centros (4,9%). Así mismo, en el control GR-2B/23, de los 65 participantes con resultados analizables, el laboratorio externo fue requerido por un único centro (1,5%).

COMENTARIOS DE LOS PARTICIPANTES

En el primer control, 6 centros comentaron explícitamente que la detección del gen *vanB* había sido negativa. Hubo 3 centros que señalaron que el gen *vanA* detectado en la cepa producía resistencia a la vancomicina y a la teicoplanina. Otros 2 centros comentaron que si bien el sistema comercial que habían utilizado no diferenciaba el gen *vanA* del gen *vanB*, en base al el perfil de sensibilidad de la cepa era más probable el gen *vanA*.

En el segundo control, 6 centros especificaron las distintas dianas en las que habían obtenido un resultado negativo. Por último, 2 centros señalaron que la cepa presentaba un perfil de resistencia típico de la producción de VIM.

Madrid, 29 de noviembre de 2023

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

GR-2A/23 y GR-2B/23

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/23 y GR-2B/23