

## ANÁLISIS DE RESULTADOS DE DETECCIÓN GENOTÍPICA DE MECANISMOS DE RESISTENCIA BACTERIANA POR TÉCNICAS MOLECULARES. GR1A26y GR1B26

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 adecuadas 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 producción de  **$\beta$ -lactamasa** en una cepa de *Klebsiella pneumoniae* (GR1A26) y la detección de los genes implicados en la **resistencia a los glucopéptidos** en una cepa de *Enterococcus faecium* (GR1B26); así como que formularan los **comentarios y sugerencias** que considerasen oportunos.

### VALOR ASIGNADO

El valor asignado de referencia (valor de consenso de expertos) para cada una de las determinaciones fue el siguiente:

- **GR1A26- Detección de  $\beta$ -lactamasa mediante una PCR comercial múltiple seguida de hibridación:**  
Positiva para el gen productor de SHV (*bla<sub>SHV</sub>*).
- **GR1B26 - Detección de resistencia a los glucopéptidos mediante una PCR simple de desarrollo propio:**  
Positiva para el gen *vanB*.

GR1A26 y GR1B26

## PARTICIPACIÓN

En total, se enviaron 74 muestras a los distintos laboratorios inscritos en esta área. En el control **GR1A26** hubo 70 centros que remitieron la hoja de respuesta. De ellos, 9 no realizaron la detección mediante métodos moleculares, por lo que fueron 61 los centros que aportaron algún resultado valorable. Ello supone un porcentaje de participación real del 82,4%, porcentaje idéntico al del control GR1A25 (participación real del 82,4%) en el que se solicitó la detección genotípica de BLEE en una cepa de *Escherichia coli*.

En cuanto al control **GR1B26**, de los 74 centros inscritos en el área de Genotipado de Resistencia 71 remitieron la hoja de respuesta. De ellos, 4 centros no efectuaron, por métodos moleculares, la determinación solicitada, por lo que hubo 67 centros con resultados analizables. Así, el porcentaje de participación real fue del 90,5%, ligeramente superior al del control GR1B25 (86,5%) en el que también se solicitaba la detección genotípica de la resistencia a los glucopéptidos en otra cepa de *E. faecium*.

## CONTROL GR1A26: DETECCIÓN GENOTÍPICA DE $\beta$ -LACTAMASA

De los 61 centros que informaron esta prueba con resultados valorables, 41 (67,2%) obtuvieron un resultado positivo, resultado coincidente con el valor asignado, mientras que los 20 centros restantes (32,8%) informaron el resultado como negativo.

En cuanto a las dianas informadas, 38 de los 41 centros (98,4%) detectaron el gen productor de SHV. De ellos, 16 especificaron que se trataba de la  $\beta$ -lactamasa SHV-18. El conjunto de todas las dianas informadas se detalla en la tabla 1.

Por lo que respecta a los métodos utilizados, hubo un predominio de la PCR en tiempo real (en 18 centros, el 29,5%), seguida de la secuenciación masiva (15 centros, el 24,6%), y de la PCR múltiple con hibridación posterior (14 centros, el 23,0%). Respecto a las marcas utilizadas, hubo una amplia variedad de ellas, con un predominio de las tiras Flow Chip de Máster Diagnóstica®, seguido de los reactivos de Illumina y del FilmArray® de bioMérieux.

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

Método	Marca	Diana	Positivo (% <sup>a</sup> )	Negativo (% <sup>a</sup> )	Total Número (% <sup>b</sup> )
PCR <i>real-time</i>	FilmArray® (bioMérieux)	CTX-M	–	8 (100,0)	8 (13,2)
	Molecular Mouse (Alifax)	SHV	6 (100,0)	–	6 (9,9)
	Allplex™ (Seegene)	CTX-M	–	3 (100,0)	3 (4,9)
	RealCycler® (Progenie)	No informa	–	1 (100,0)	1 (1,6)
Secuenciación masiva	Illumina	SHV-18	11 (100,0)	–	11 (18,0)

GR1A26 y GR1B26

	Desarrollo propio	SHV-18	3 (100,0)	–	3 (4,9)
	Desarrollo propio	OKP-B-6	1 (100,0)	–	1 (1,6)
PCR múltiple + hibridación	Flow Chip (Master Diagnóstica®)	SHV	11 (78,6)	3 (21,4)	14 (23,0)
LAMP	eazyplex® (Amplex)	CTX-M	–	4 (100,0)	4 (6,6)
PCR múltiple	Desarrollo propio	SHV	2 (100,0)	–	2 (3,3)
	Desarrollo propio	CTX-M-1	1 (100,0)	–	1 (1,6)
PCR simple	Desarrollo propio	SHV	3 (100,0)	–	3 (4,9)
	Desarrollo propio	CTX-M-1	1 (100,0)	–	1 (1,6)
Secuenciación	Desarrollo propio	SHV-18	2 (100,0)	–	2 (3,3)
PCR isotérmica	Unyvero (Menarini)	CTX-M	–	1 (100,0)	1 (1,6)
Total <sup>b</sup>	–	–	41 (67,2)	20 (32,8)	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 GR1B26: DETECCIÓN GENOTÍPICA DE RESISTENCIA A LOS GLUCOPÉPTIDOS

Los 67 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, 57 de estos 67 centros detectaron el gen *vanB* de forma aislada, mientras que 9 laboratorios detectaron el gen *vanA* junto con el gen *vanB*, y un único laboratorio informó el gen *vanA*.

En cuanto a los métodos informados, hubo un predominio de la PCR en tiempo real, realizada por el 46,3% de los participantes. Respecto a las marcas utilizadas, las más frecuentemente informadas fueron los cartuchos Xpert® de Cepheid seguidos de las tiras Flow Chip de Máster Diagnóstica® y de los paneles FilmArray® de bioMérieux. El conjunto de los métodos y marcas empleadas se muestra en la tabla 2.

**Tabla 2. Detección genotípica de la 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>	Xpert® (Cepheid)	<i>vanB</i>	14 (100,0)	14 (20,9)
	FilmArray® (bioMérieux)	<i>vanA/vanB</i>	9 (100,0)	9 (13,5)
	Allplex™ (Seegene)	<i>vanB</i>	5 (100,0)	5 (7,4)
	Molecular Mouse (Alifax)	<i>vanB</i>	3 (100,0)	3 (4,5)

GR1A26 y GR1B26

PCR múltiple + hibridación	Flow Chip (Master Diagnóstica®)	<i>vanB</i>	11 (100,0)	11 (16,4)
	Unyvero	<i>vanB</i>	2 (100,0)	2 (3,0)
	Flow Chip (Master Diagnóstica®)	<i>vanA</i>	1 (100,0)	1 (1,5)
PCR simple	Desarrollo propio	<i>vanB</i>	8 (100,0)	8 (11,9)
LAMP	eazyplex® (Amplex)	<i>vanB</i>	7 (100,0)	7 (10,4)
PCR múltiple	Desarrollo propio	<i>vanB</i>	3 (100,0)	3 (4,5)
Secuenciación masiva	Illumina	<i>vanB</i>	2 (100,0)	2 (3,0)
	No especifica	<i>vanB</i>	1 (100,0)	1 (1,5)
No informa	No especifica	<i>vanB</i>	1 (100,0)	1 (1,5)
Total <sup>b</sup>	–	–	67 (100,0)	67 (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

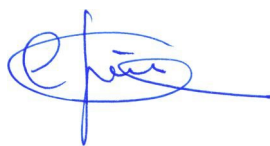
Por lo que respecta a la necesidad de utilizar un laboratorio externo de referencia, en cuanto al control GR1A26, de los 61 laboratorios participantes con resultados analizables, el laboratorio externo fue utilizado por 7 centros (el 11,5%), de los que 4 lo usaron de forma parcial. En el control GR1B26, de los 67 participantes con respuestas valorables, el laboratorio externo fue utilizado por un solo centro (el 1,5%).

## COMENTARIOS DE LOS PARTICIPANTES

En el primer control, nueve centros señalaron que la cepa fenotípicamente era productora de BLEE, pero que el sistema molecular que habían utilizado únicamente detectaba CTX-M. Hubo tres centros que comentaron que SHV era una  $\beta$ -lactamasa cromosómica propia de *K. pneumoniae*. Por último, tres centros especificaron otros genes de resistencia detectados, además del *bla*<sub>SHV</sub>: principalmente *bla*<sub>OXA-2</sub> y *bla*<sub>OKP-B-6</sub>.

En el segundo control, 4 centros comentaron que la cepa presentaba el fenotipo *VanB* (resistencia a la vancomicina con sensibilidad a la teicoplanina).

Madrid, 18 de mayo de 2026



Concepción Gimeno Cardona  
**Coordinadora del Programa de Control de Calidad SEIMC**

Todos los datos de este análisis han sido tratados confidencialmente y cumpliendo con los requisitos de la norma ISO 17043, independientemente de que se traten de áreas incluidas o no en el alcance de la acreditación por dicha norma.

**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, por lo que este aspecto está fuera del alcance de la acreditación por ENAC.

**Nota:** las actividades subcontratadas por el Programa CCS son estudios de fenotipo de resistencia en cepas bacterianas liofilizadas, necesarios para que desde el Programa se establezca el valor asignado a partir del consenso de resultados de laboratorios expertos, y los estudios de homogeneidad y estabilidad de las muestras provenientes de cada uno de los lotes, siguiendo una estricta programación de tareas. Si en un determinado momento se necesita subcontratar otras actividades diferentes a las indicadas se informará debidamente.

Cumpliendo con los requerimientos de la norma ISO/IEC 17043, las actividades subcontratadas que afectan a los resultados de las pruebas solicitadas y a los estudios de homogeneidad y estabilidad son realizadas por colaboradores externos, acreditados por la norma ISO 15189 o evaluados previamente por el Programa CCS según los criterios de la norma ISO 15189.

**Nota:** si los datos anteriores son incorrectos o consideran oportuno apelar los resultados, rogamos se dirijan a la Secretaría del Programa CCS.

GR1A26 y GR1B26