

**Falsa resistencia a carbapenemas en anaerobios**

**Sr. Editor:** Aunque el método de referencia recomendado por el NCCLS para la detección de resistencias en anaerobios es la dilución en agar<sup>1</sup>, la práctica diaria de un laboratorio clínico requiere el uso de métodos menos laboriosos pero cuyos resultados sean exactos y concordantes con dicho método. En este sentido, el Etest (AB Biodisk, Suecia) ha demostrado ser un procedimiento práctico y fiable para el estudio rutinario de resistencias en anaerobios<sup>2,3</sup>. Si bien las especificaciones del fabricante recomiendan el uso de medios tales como agar Brucella, Wilkins-Chalgren, PDM o Isosensitest, no existe ninguna limitación expresa respecto a la utilización de otros medios de cultivo para anaerobios. Entre ellos, el medio Schaedler, considerado por algunos autores como el más apropiado para la recuperación de anaerobios a partir de muestras clínicas<sup>4</sup>, ha sido empleado para los estudios de resistencia en anaerobios<sup>5-7</sup>. En nuestro laboratorio, utilizando el método Etest, medio Schaedler y en condiciones estándares de inóculo e incubación, se observó la aparición de colonias resistentes dentro del halo de inhibición del imipenem, en algunas especies de anaerobios (mayoritariamente *Clos-*

*tridium* spp.). El objeto del presente estudio fue determinar si el fenómeno observado se debe a la presencia de poblaciones heterorresistentes a carbapenemas, es un fenómeno de crecimiento residual o se trata de un artefacto metodológico que da lugar a una falsa resistencia.

Se utilizaron 10 cepas de anaerobios, identificadas por API 20 A (Bio-Mérieux, Francia) y Rapid Id Ana (II) (Remel, EE.UU.) (seis *Clostridium perfringens*, un *Clostridium sordelli*, dos *Fusobacterium necrophorum* y un *Bacteroides ovatus*) aisladas de muestras clínicas que habían presentado resistencia al imipenem en los antibiogramas realizados por Etest en medio Schaedler. Los antibiogramas se hicieron por el método Etest, de acuerdo con las instrucciones del fabricante, en distintas condiciones, empleando agar Schaedler (Becton Dickinson, EE.UU.) o agar Brucella suplementado con 5% sangre, hemina y vitamina K<sub>1</sub> (Izasa), incubación de 24 o 48 h; y distintos lotes de discos (Oxoid, España) y de tiras de imipenem (Etest, Suecia). La producción de carbapenemas se descartó mediante la técnica de Hodge<sup>8</sup>.

En todas las cepas se observaron macrocolonias dentro del halo de inhibición con el medio Schaedler, tras incubación en anaerobiosis durante 48 h (fig. 1A). Este fenómeno volvió a observarse cuando se repitió a partir de las colonias presuntamente resistentes aisladas del halo de sensibilidad, tanto con imipenem como con meropenem. Sin embargo, todas las cepas fueron sensibles (CIM < 0,25 µg/ml) con un valor de punto final claramente definido, cuando el ensayo se hizo en medio Brucella sangre y 48 h de incubación, o cuando la incubación se realizó en cualquiera de los medios durante sólo 24 h (fig. 1B). Dada la ra-

reza de las cepas de *Clostridium* spp. resistentes a carbapenemas, se sospechó que pudiera tratarse de un artefacto derivado de las condiciones de ensayo. Algunos autores definen un fenómeno de *trailing* o crecimiento residual cuando se determina la sensibilidad de *Clostridium* spp. o *Fusobacterium* spp. mediante Etest en medio de Wilkins-Chalgren<sup>2</sup>. No obstante, este fenómeno no se asocia a la aparición de macrocolonias y/o al uso de antibióticos bactericidas. Por otro lado, el hecho de que la resistencia dependa, no sólo del medio, sino del tiempo de incubación, apunta a una pérdida de actividad del imipenem que, por otro lado, es poco estable en medio ácido. El menor valor de pH en la superficie del medio Schaedler tras 48 h de incubación (una unidad inferior a la del medio Brucella) podría justificar este fenómeno.

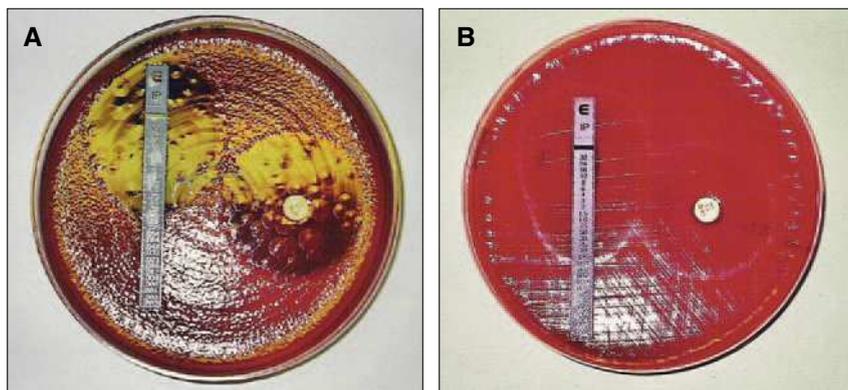
Consideramos que la mayor riqueza nutritiva del medio Schaedler favorece el crecimiento de los microorganismos anaerobios, algunos de ellos de difícil recuperación, pero sustenta la producción de mayor cantidad de metabolitos que acidifican el medio con la consiguiente alteración de la actividad de los antibióticos. Así pues, el medio Schaedler no es adecuado para el estudio de resistencias a las carbapenemas en bacterias anaerobias ya que puede inducir la aparición de falsas resistencias.

Mercedes Treviño-Castellano,  
Ángeles Gómez-Rial,  
Eduardo Varela-Ledo  
y Benito J. Regueiro-García.

Servicio de Microbiología.  
Complejo Hospitalario Universitario  
de Santiago de Compostela (C.H.U.S).  
La Coruña. España.

## Bibliografía

1. NCCLS Methods for antimicrobial susceptibility testing of anaerobic bacteria. 6th ed. M11-A6.2.004, NCCLS, Wayne, PA.
2. Piérard A, De Meyer P, Rosseel S, Lawers. Use of the E-test for determining antimicrobial susceptibility of anaerobic bacteria. Path Biol. 1996;44:358-62.
3. Gerri S, Hall and Sharon Parshall. Use of the concentration gradient diffusion assay (Etest) for susceptibility testing of anaerobes, fungi, and *Mycobacterium* spp. Clin Microbiol Newsletter. 2002;24:105-9.
4. Kimberle C, Chapin and Patrick R. Murray. En: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenoer FC, Tenover RH, editors. Manual of Clinical Microbiology. 7th ed. Washington: ASM Press; 1999. p. 1700.
5. García-Rodríguez JA, García Sánchez JE, García García MI, Trujillano Martín I. Métodos para el estudio de la sensibilidad de las bacterias anaerobias. En: Casal Román M, editor. Métodos del estudio de la actividad de antimicrobianos. Servicio de publicaciones de la Universidad de Córdoba, 1995, ISBN 84-7801-292-3, p. 225-54.
6. Koneman EW, Allen SD, Dowell VR, Janda WM, Sommers HM, Winn WC. Bacterias anaerobias. En: Diagnóstico microbiológico. 3ª ed. Ed. Panamericana, 1992. p. 555-6.
7. Shungu DL, Weinberg E, Cerami AT. Evaluation of three broth disk methods for testing the susceptibility of anaerobic bacteria to imipenem. J Clin Microbiol. 1985;21:875-9.
8. Lee K, Chong Y, Shin HB, Kin YA, Yong D, Yum JH. EDTA-disk synergy tests to screen metallo-beta-lactamase-producing strains of *Pseudomonas* and *Acinetobacter* species. Clin Microbiol Infect. 2001;7:88-91.



**Figura 1.** Antibiograma de *Clostridium* spp. llevado a cabo en distintas condiciones: A) Agar Schaedler incubado a 35 °C durante 48 h en anaerobiosis. B) Agar Brucella sangre incubado a 35 °C durante 48 h en anaerobiosis.