

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA
SISTEMA DE ESTUDIOS DE POSGRADO

” PERFIL DE RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS DE CEPAS DE
CLOSTRIDIUM SPP. OBTENIDAS A PARTIR DE MUESTRAS CLÍNICAS DE
HUESO, PIEL Y TEJIDOS BLANDOS, DURANTE EL PERIODO 2020-2022 EN
UN HOSPITAL DE TRAUMA DE COSTA RICA.”

Trabajo final de graduación sometido a la consideración de la Comisión del Programa
de Estudios de Posgrado en Especialidades en Microbiología para optar al grado y
título de Especialista en Bacteriología médica

MARIELA ALVARADO RODRÍGUEZ

Ciudad Universitaria Rodrigo Facio, Costa Rica

2024

DEDICATORIA:

Este trabajo se lo dedico a mi familia: Sergio, Mushu, Bucky, Coco y Kiwi, quienes siempre están a mi lado, sin importar las circunstancias. Mi motivación para continuar. A mi ángel en el cielo, mi abuelita Filla.

AGRADECIMIENTOS:

Quisiera agradecer a mi familia por el apoyo que me han brindado durante este periodo y durante toda mi vida, a mi esposo Sergio, a mi mamá, mi papá, a Stefany y Gianca que siempre me motivaron a continuar y a culminar este logro.

A mis amigas Adri, Cata, Gabi y Mari por su cariño, palabras de aliento y apoyo continuar.

A mi tutor por la paciencia, el apoyo, las recomendaciones y todo el conocimiento que me ha brindado durante este periodo.

Al Laboratorio Clínico y Banco de Sangre de la Universidad de Costa Rica, a cada una de las jefaturas por el apoyo para concluir este proyecto.

Al Dr. Alexander Romero por la guía y consejos durante este proceso.

A mis compañeras y compañeros de la especialidad, quienes siempre brindaron su apoyo, acompañamiento y conocimiento para lograr concluir este logro, creamos una linda amistad y red de apoyo.

Finalmente, a todas las personas de alguna manera brindaron palabras de aliento, apoyaron en momentos difíciles y me acompañaron durante este periodo, ¡muchas gracias!

Este trabajo final de graduación fue aceptado por la Comisión del Programa de Posgrado en Especialidades en Microbiología de la Universidad de Costa Rica, como requisito parcial para optar al grado y título de Especialidad en Bacteriología médica



PhD. Dr. Carlos Quesada Gómez

Profesor tutor



Esp. Dra. María José Rodríguez González

Lectora



MSc. Dra. Elvira Segura Retana

Lectora



Mariela de los Angeles Alvarado Rodríguez

Sustentante

TABLA DE CONTENIDOS

DEDICATORIA:.....	ii
AGRADECIMIENTOS:	iii
HOJA DE APROBACIÓN	iv
RESUMEN	vii
LISTA DE CUADROS	viii
LISTA DE FIGURAS.....	ix
LISTA DE ABREVIATURAS.....	x
1 INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 Generalidades del género <i>Clostridium</i> spp.....	1
1.2 Infecciones óseas y de tejido blandos producidas por <i>Clostridium</i> spp en pacientes con accidentes traumáticos.	2
1.3. Tratamiento antimicrobiano para infecciones por <i>Clostridium</i> sp.....	5
1.4. Resistencia a los antimicrobianos del género <i>Clostridium</i> sp	8
2. JUSTIFICACIÓN.....	11
3. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.....	12
4. HIPÓTESIS	13
5. OBJETIVOS:.....	14
5.1 Objetivo general:	14
5.2 Objetivos específicos:	14
6. DISEÑO EXPERIMENTAL.....	15
6.1 Cepas en estudio.....	15
6.2 Prueba de sensibilidad a los antimicrobianos.....	15
6.3 Concentraciones inhibitorias mínimas (CMI).....	15
6.4 Controles empleados.....	17
7. RESULTADOS:	18
8. DISCUSIÓN.....	21
9. CONCLUSIONES:	29
10. BIBLIOGRAFÍA:.....	31
11. Anexos.....	37

RESUMEN

Las bacterias anaerobias son parte de la microbiota normal de la piel, son colonizantes y están ubicuas a nivel de membranas de mucosas, pueden causar infecciones óseas y de tejidos blandos. Estas infecciones son parte de los efectos secundarios posterior a sufrir accidentes de tránsito y lesiones traumáticas, pueden ser de etiología monomicrobianas o polimicrobianas.(Mathur, 2008; Stevens et al., 2005).

Se ha detectado un aumento en la resistencia a los antimicrobianos durante las últimas tres décadas, se ha observado principalmente con: clindamicina, meropenem, amoxicilina-ácido clavulánico, ceftioxina, metronidazol, entre otros. (Brook et al., 2013; Wybo et al., 2014), es por esto, que es necesario determinar el perfil de resistencia de estos microorganismos, para establecer protocolos de tratamiento antes infecciones causadas por estos.

La determinación de la prueba de sensibilidad se ve afectada por muchos factores como: requiere de tiempo, de crecimiento de microorganismos en condiciones ideales, medios de cultivos especiales, conocimiento técnico, materiales y equipos, entre otros. La información disponible a nivel local escasa, por lo que, se promueve el uso empírico de antimicrobianos, lo cual, puede ocasionar que se dé una respuesta clínica deficiente y conllevar a falla terapéutica. (Shuetz, 2014).

Dentro de los hallazgos obtenidos en este estudio está la detección de un alto porcentaje de resistencia a la vancomicina de 55.8 % y de un porcentaje de resistencia hacia la clindamicina del 15.4 %, a diferencia de los resultados obtenidos al analizar la amoxicilina + ácido clavulánico y metronidazol, donde no se detectó resistencia al analizar la totalidad de los aislamientos de *Clostridium* spp. Con respecto a la doxiciclina y al linezolid se determinaron los valores de CMI₅₀ y CMI₉₀.

Se puede evidenciar que existe un alto porcentaje de resistencia a los antimicrobianos vancomicina y clindamicina, con respecto a la vancomicina, este valor es mayor al reportado en diferentes estudios a nivel mundial, a diferencia de la clindamicina, metronidazol y amoxicilina + ácido clavulánico, donde los resultados concuerdan con lo reportado a nivel mundial. Los valores de CMI₅₀ y CMI₉₀ del linezolid son similares a lo reportado a nivel mundial, en el caso de la doxiciclina no hay valores reportados.

Este trabajo permite observar una imagen de la realidad de la resistencia a los antimicrobianos dentro del ámbito hospitalario en Costa Rica, es el primer estudio que se realiza a nivel nacional de aislamientos obtenidos a partir de muestras óseas y de piel y tejidos blandos.

LISTA DE CUADROS

- Cuadro 1.** Rangos de referencia de los antibióticos amoxicilina-ácido clavulánico, clindamicina y metronidazol, según la CLSI en su edición 34.....16
- Cuadro 2.** Datos de CIM₅₀ y CIM₉₀ para los antibióticos clindamicina, metronidazol, vancomicina, amoxicilina-ácido clavulánico, determinados a partir de aislamientos del género *Clostridium*, obtenidos a partir de muestras de infecciones de piel, tejidos blandos y hueso de un hospital del Trauma en Costa Rica.....18
- Cuadro 3.** Datos de CIM₅₀ y CIM₉₀ obtenidos para los antimicrobianos doxiciclina y linezolid a partir de los aislamientos bacterianos distribuidos según el género *Clostridium*, obtenidos a partir de muestras de infecciones de piel, tejidos blandos y hueso de un hospital del Trauma en Costa Rica.....19
- Cuadro 4.** Porcentajes de resistencia a los antimicrobianos de aislamientos bacterianos distribuidos según el género *Clostridium*, obtenidos a partir de muestras de infecciones de piel, tejidos blandos y hueso de un hospital del Trauma en Costa Rica.....20
- Cuadro 5.** Resultados de PSA de los aislamientos de *Clostridium sp.*.....37

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Resultados de PSA de doxiciclina y clindamicina de un aislamiento de *C. perfringens*.....22
- Figura 2.** Resultados de PSA de doxiciclina y vancomicina de un aislamiento de *C. sordelli*.....22.

LISTA DE ABREVIATURAS

PSA: prueba de sensibilidad a los antimicrobianos.

BRU: Agar Brucella.

CMI: concentración mínima inhibitoria.

CMI₅₀: concentración mínima inhibitoria capaz de inhibir al 50% de los aislamientos.

CMI₉₀: concentración mínima inhibitoria capaz de inhibir al 90% de los aislamientos.

CLSI: clinical and laboratory standards institute.

EUCAST: european committee on antimicrobial susceptibility testing.

MRSA: *S. aureus* resistente a la meticilina.

1 INTRODUCCIÓN

1.1 Generalidades del género *Clostridium* spp

Las bacterias anaerobias forman parte de la microbiota humana, colonizan la piel y son el principal componente bacteriano presente en las membranas mucosas. Son de naturaleza endógena, por lo que, juegan un papel importante en las infecciones. (Brook, 2016). Son patógenos importantes en muchos tipos de infecciones, las cuales tienen un espectro de severidad desde leve hasta severo y de alto riesgo de muerte. (Nagy, 2010).

Dentro de las infecciones causadas por anaerobios están: infecciones del sistema nervioso central, cabeza, cuello y tracto respiratorio superior, otitis media, rinosinusitis, parotitis, linfadenitis cervical, tonsilitis, pleuropulmonar, intraabdominal, tracto genital femenino, infecciones de piel y tejido blando, osteomielitis y artritis séptica, bacteriemia, entre otras. (Brook, 2016).

Las bacterias que tienen mayor importancia clínica y que se asocian a más del 95% de las infecciones, pertenecen a los siguientes géneros: *Bacteroides*, *Prevotella*, *Porphyromonas*, *Fusobacterium*, *Bilophila*, *Sutterella*, *Peptostreptococcus*, *Clostridium*, *Actinomyces*, *Propionibacterium*, *Eubacterium*, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* y *Veillonella* (Brook, 2016).

El género *Clostridium* tiene descritas más de 150 especies, de las cuales, alrededor de 30 se han asociado a infecciones en humanos. Son bacilos Gram positivos esporulados, pleomórficos: bacilos cortos y gruesos, de formas largas y filamentosas, hasta incluso rectos o ligeramente curvos. (Brook, 2016; Miranda & Rojo, 2010). Son bacterias anaerobias o en algunas ocasiones aerotolerantes. Se encuentran en materia vegetal del suelo, heces, aguas residuales y sedimentos marinos. (Trempe et al., 2020).

Estas bacterias al estar en condiciones anaeróbicas tienen la capacidad de formar esporas con alta resistencia a los daños físicos y químicos aplicados sobre ellas. Además, no son susceptibles a los antimicrobianos. (Trempe et al., 2020).

Son capaces de producir infecciones en múltiples zonas del cuerpo, teniendo diversas presentaciones, tales como: tétano, botulismo, gangrena gaseosa, sepsis, infecciones de tejidos blandos, intoxicación alimentaria, enterocolitis neutropénica, colitis, entre otras. (Brook, 2016; Mallozzi et al., 2010).

Muchas especies de *Clostridium spp* producen toxinas, algunas tienen la capacidad de causar necrosis en el tejido, por lo tanto, pueden ocasionar daños graves como necrosis en médula ósea o necrosis a nivel óseo. (Trempe et al., 2020).

El aumento de la incidencia de infecciones por bacterias anaerobias se atribuye, en parte, al alto número de pacientes con enfermedades subyacentes complejas (Schuetz & Lavrova, 2014). Además, estos pacientes infectados pueden servir como reservorios de estas bacterias patógenas, lo cual, puede facilitar la infección nosocomial, mediante la contaminación de superficies con las esporas.(Mallozzi et al., 2010).

1.2 Infecciones óseas y de tejido blandos producidas por *Clostridium spp* en pacientes con accidentes traumáticos.

Las infecciones óseas, de piel y tejidos blandos se pueden presentar en pacientes después de sufrir accidentes de tránsito y lesiones traumáticas, es común que las personas politraumatizadas presenten infecciones multifocales y pueden asociarse a un solo microorganismo o pueden ser polimicrobianas.(Mathur, 2008; Stevens et al., 2005). Las infecciones en pacientes que han sufrido lesiones traumáticas causan cambios patofisiológicos profundos, se induce una inmunodeficiencia secundaria. Esta supresión de funciones incluye múltiples alteraciones del sistema inmune a nivel de inmunidad celular y humoral.(Mathur, 2008).Se pueden presentar defectos en el proceso de la fagocitosis, la destrucción de microorganismos, opsonización y la producción de citoquinas.(Mathur, 2008; Pape et al., 2022).

Dentro de las alteraciones que se pueden presentar en este tipo de pacientes se describe:

1. Cambios en la respuesta de polimorfonucleares: Existen dos tipos de respuesta la hiperactiva o la suprimida. Los cambios hiperreactivos pueden ocasionar una respuesta inflamatoria sistémica y fallo multiorgánico que conlleva a la muerte. Los cambios hiporeactivos pueden facilitar las infecciones y las complicaciones asociadas estas. (Mathur, 2008).
2. La hipoperfusión es otro cambio que se genera en estos pacientes al presentar una infección post trauma, esta condición interfiere significativamente con la habilidad de transportar oxígeno, el oxígeno es un factor crítico, ya que, ayuda a eliminar las bacterias, así mismo, al estar en presencia de hipoperfusión la llegada de anticuerpos, polimorfonucleares, macrófagos, complemento y antibióticos a la herida

se ve afectado, aunado a la presencia de tejidos desvitalizados y hematomas.(Mathur, 2008).

Las lesiones generadas por traumas severos o por politraumas tienen un alto riesgo de infección por *Clostridium* spp, principalmente cuando las lesiones en la piel, en tejidos (con músculos y tejido subcutáneo expuestos) o fracturas expuestas se contaminan con materia vegetal del suelo que puede contener gran cantidad de microorganismos ambientales. (Ibnoukhatib et al., 2012).También existe la posibilidad de infección endógena, debido a la microbiota normal del paciente, al romperse las barreras físicas del huésped. (Brook, 2016a; Mathur, 2008).

Después del daño a nivel muscular y subcutáneo por el trauma, el paciente puede sufrir necrosis de tejidos, esto permite tener las condiciones ideales para que se dé la infección: hay baja tensión de oxígeno, hay disponibilidad de nutrientes, las esporas de *Clostridium sp* germinan, se multiplican y producen toxinas potentes, que causan más daño en el hospedero.(Ibnoukhatib et al., 2012; Mathur, 2008).

Las bacterias del género *Clostridium* que más se asocian a infecciones en humanos son: *C. perfringens*, *C. septicum*, *C. novyii*, *C. sordellii*, *C. tetani*, *C. difficile*, *C. botulinum*, *C. butyricum*, *C. baratii*, *C. tertium*, *C. histolyticum*, *C. sporogenes*, *C. ramosum*, *C. innocuum*, *C. paraputrificum*, *C. cadaveris*, *C. bifermentans*, *C. fallax*, *C. clostridioforme*. (Brook, 2016a; Phe, 2016).

Tal como se mencionó previamente, las especies del género *Clostridium* tienen la capacidad de causar un amplio rango de patologías, dentro de las cuales están: la fascitis necrotizante, mionecrosis o gangrena gaseosa y la osteomielitis.

a. Fascitis necrotizante:

Es una lesión donde se produce una destrucción generalizada de los tejidos que puede extenderse desde la epidermis hasta la musculatura profunda, llegando hasta la fascia profunda.(Stevens & Bryant, 2017) Pueden ser de etiología polimicrobiana o monomicrobiana. (Burnham & Kollef, 2018a).

Existen comorbilidades asociadas a estas patologías, dentro de las que están: diabetes mellitus, obesidad, enfermedades cardiovasculares, uso de drogas intravenosas, inmunosupresión y abuso crónico de alcohol. (Peetermans et al., 2020).

Los pacientes pueden presentar dolor intenso al examen físico, sin embargo, los nervios pueden necrosarse debido a la infección, en consecuencia, pueden tener una anestesia local. (Brook, 2008; Burnham & Kollef, 2018; Peetermans et al., 2020; Stevens & Bryant, 2017).

El diagnóstico se puede realizar por medio de cirugía, donde la fascia superficial se observa desgarrada, presenta un exudado de color grisáceo y no hay

producción de pus. Este tipo de lesiones pueden presentarse después de daños graves causados por traumatismo, así mismo, se pueden presentar luego de lesiones superficiales de la piel y mucosas. (Brook, 2008; Burnham & Kollef, 2018; Peetermans et al., 2020; Stevens & Bryant, 2017).

Los pacientes que sufren fascitis necrotizante pueden desarrollar shock séptico, tener requerimiento de ventilación mecánica y podrían sufrir daño agudo en los riñones.(Peetermans et al., 2020). La presentación clínica más común es en las extremidades, seguida por la zona perineal (Gangrena de Fournier), mientras que las zonas del cuello y tronco son menos frecuentes.(Peetermans et al., 2020).

En estos casos debe realizarse debridación de los tejidos afectados, además, realizar cultivos bacteriológicos en conjunto y debe suministrarse terapia empírica con antimicrobianos de amplio espectro como primera línea de tratamiento. (Burnham & Kollef, 2018; Peetermans et al., 2020).

b. Mionecrosis o gangrena gaseosa:

Esta infección puede causar dolor severo, descoloración rojiza en la piel, pueden formarse bulas grandes y sanguinolentas, hay crepitación, se produce secreción acuosa con mal olor. Al realizar una la tinción de Gram del tejido afectado se observan pocas células inflamatorias y abundantes bacilos Gram positivos. (Brook, 2008; Mathur, 2008).

Es una infección fulminante, la tasa de mortalidad está alrededor del 40% al 60% y es levemente mayor si la lesión está a nivel de pared abdominal. (Brook, 2008; Tremp et al., 2020).

La especie que se asocia en mayor cantidad a esta infección es la *C. perfringens*, causa aproximadamente el 80% de estas infecciones, otros patógenos involucrados incluye: *C. septicum*, *C. novyi*, y *C. histolyticum* (Hyte et al., 2021; Stevens & Bryant, 2017).

Dentro de los factores predisponentes para desarrollar una mionecrosis están: cirugía de tracto biliar y de intestinos, inyección de epinefrina, placenta retenida, ruptura prolongada de membranas y muerte fetal intrauterina. (Stevens & Bryant, 2017).

El tratamiento de esta patología incluye un manejo quirúrgico, desbridamiento de tejidos agresivo, cuidados intensivos meticulosos, estas medidas se deben realizar en conjunto con el tratamiento de antibióticos de amplio espectro. (Stevens et al., 2005).

c. Osteomielitis:

Es una infección de tejido óseo, poco común y de mucha gravedad. El diagnóstico es difícil, muchas veces conlleva mucho tiempo, por lo que, se debe tener un alto índice de sospecha clínica, principalmente en pacientes con heridas contaminadas con tierra. (Corrigan et al., 2020; Ibnoulkhatib et al., 2012).

El tratamiento es complicado, se debe realizar una debridación extensa y agresiva, se debe repetir cuantas veces sea necesario para eliminar todo el tejido afectado, ya que, la persistencia de las esporas en la zona puede afectar la eficacia de los antibióticos in vivo. (Ibnoulkhatib et al., 2012; Tremp et al., 2020) Todo tejido infectado debe retirarse y cualquier material de fijación interna debe retirarse. (Tremp et al., 2020).

La eliminación del tejido afectado es sumamente importante para la recuperación del paciente, este proceso se acompaña de pruebas de imagenología y terapia antimicrobiana, esta se considera la mejor estrategia de manejo de pacientes con osteomielitis por *Clostridium* sp. (Corrigan et al., 2020). Un tercio de los pacientes tiene resultados poco favorables a pesar de tener un manejo multidisciplinario. (Ibnoulkhatib et al., 2012).

Se deben enviar muestras de tejido para cultivar y recuperar el patógeno asociado a la infección, un muestreo minucioso de tejido y un cultivo apropiado son esenciales para identificar los organismos. (Corrigan et al., 2020; Tremp et al., 2020).

La identificación puede conllevar mucho tiempo, sin embargo, se debe realizar y también la prueba de sensibilidad, para lograr un tratamiento adecuado y dirigido según la sensibilidad a los antimicrobianos del aislamiento. (Tremp et al., 2020).

1.3. Tratamiento antimicrobiano para infecciones por *Clostridium* sp

El tratamiento de bacterias anaerobias es complicado, las infecciones suelen ser polimicrobianas, la identificación del patógeno es difícil y se ha detectado una creciente resistencia a los antimicrobianos. (Brook et al., 2013). Además, la terapia antimicrobiana generalmente debe administrarse durante períodos prolongados debido a la posibilidad de una recaída, este puede ser un periodo desde 3 semanas a 3 meses, según el sitio y la gravedad de la infección. (Gajdács et al., 2017).

Se requiere de un resultado de cultivo para brindar una terapia dirigida, sin embargo, no siempre existe la disponibilidad de estas pruebas, por lo que se emplean antimicrobianos de forma empírica.

Para obtener el resultado PSA se debe realizar la identificación del microorganismo asociado a la infección y la realización de la determinación de la sensibilidad a los antimicrobianos de este aislamiento. (Brook et al., 2013). Este proceso conlleva tiempo, el crecimiento de estos microorganismos es lento, es un procedimiento costoso y requiere de personal técnico experto. (Brook et al., 2013)

Para realizar la selección del antimicrobiano, además de conocer la especie causante de la enfermedad, se debe considerar el espectro de acción, características farmacológicas, la toxicidad, efectos sobre la microbiota normal y la actividad bactericida, además de la vía de administración. (Brook et al., 2013; Gajdács et al., 2017).

El tratamiento empírico empleado para infecciones por *Clostridium* sp incluye: penicilina, metronidazol, cloranfenicol, cefoxitina, carbapenémicos, ticarcilina, amoxicilina-clavulánico, piperacilina-tazobactam, tigeciclina, moxifloxacina y clindamicina. (Brook, 2016; Brook et al., 2013).

Dentro de las recomendaciones expuestas en las guías de la Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2024) en su edición 34, está la evaluación de forma rutinaria de la sensibilidad de los antibióticos del tier 1 como primera opción terapéutica, se incluye: ampicilina, penicilina, amoxicilina-ácido clavulánico, ampicilina-sulbactam, piperacilina-tazobactam, ticarcilina-ácido clavulánico, clindamicina, ertapenem, imipenem, meropenem y metronidazol.

Y si existe evidencia de resistencia a los antimicrobianos descritos previamente, se deben evaluar los antimicrobianos del tier 4, que incluye: cefotetan, cefoxitina, ceftriaxona, tetraciclina, imipenem-relebactam y moxifloxacina, esto para el caso de anaerobios Gram positivos. (CLSI, 2024).

Dentro de los antibióticos recomendados están: clindamicina, metronidazol, vancomicina, amoxicilina + ácido clavulánico y linezolid.

El metronidazol se emplea para el tratamiento de infecciones de piel y tejidos blandos, infecciones intraabdominales como peritonitis, abscesos intraabdominales, abscesos hepáticos, infecciones en el tracto genital, infecciones en hueso y articulaciones y septicemias, endocarditis, infecciones del sistema nervioso central, infecciones del tracto respiratorio e infecciones orales. El metronidazol debe emplearse en combinación con otros agentes antimicrobianos en infecciones mixtas de bacterias aerobias y anaerobias. (Brook et al., 2013; Hecht, 2004; Löfmark et al., 2010).

Se ha reportado la sensibilidad del metronidazol para las siguientes especies: *P. bifementans*, *C. clostridioforme*, *C. septicum* y *C. tertium*, un 97% para *C. perfringens*, 95% para *C. sordelli* y 98% para *C. ramosum*. (Stevens et al., 2012).

La clindamicina es un tratamiento bacteriostático contra anaerobios, no se recomienda en infecciones severas, sin embargo, es el antimicrobiano de elección para tratar infecciones no severas. (Reissier et al., 2023). Se recomienda para el tratamiento de infecciones de tejidos blandos, pélvicas e intrabdominales. (Brook, 2016). Se ha reportado sensibilidad del 100% a este antibiótico en las especies: *P. bifementans*, *C. perfringens*, *C. septicum* y *C. tertium*, un 82% de sensibilidad de *C. ramosum* y un 90% de sensibilidad en *C. clostridioforme*. (Stevens et al., 2012).

El antibiótico amoxicilina-ácido clavulánico es efectivo para tratar infecciones causadas por microorganismos productores de betalactamasa, está indicado para tratar infecciones mixtas de bacterias aerobias y anaerobias. (Brook et al., 2013).

Amoxicilina con ácido clavulánico se recomienda en infecciones dentales, abdominales, tracto respiratorio, pélvicas septicemia, piel y tejidos blandos.(Brook, 2016). Se ha reportado sensibilidad del 100% a este antimicrobiano en las especies: *P. bifementans*, *C. perfringens*, *C. ramosum* y *C. sordelli*, un 75% en *C. clostridioforme*.(Stevens et al., 2012).

La vancomicina es efectiva contra bacterias Gram positivas, se recomienda en infecciones de piel y tejidos blandos, así como en infecciones óseas. (Brook, 2016; Brook et al., 2013). Con respecto a los porcentajes de sensibilidad, se ha reportado el 100% de sensibilidad para las especies: *P. bifementans*, *C. perfringens*, *C. ramosum*, *C. sordelli*, *C. septicum* y *C. tertium*.(Stevens et al., 2012)

El linezolid es un antibiótico que puede emplearse en el tratamiento de infecciones óseas y de piel y tejidos blandos.(Brook, 2016). La sensibilidad reportada para el linezolid es de 100% en las especies *P. bifementans*, *C. perfringens* y *C. sordelli*, se reporta un 12% de sensibilidad en *C. ramosum* y un 86% en *C. clostridioforme*.(Stevens et al., 2012).

Al ser pruebas tan exigentes no se recomienda realizar el análisis de prueba de sensibilidad a los antimicrobianos en todos los casos de infecciones.

Según la CLSI M11 CLSI, (Clinical and Laboratory Standards Institute., 2018)en su edición número 9 se recomienda realizar las pruebas de susceptibilidad para:

- Colaborar con el manejo de infecciones en pacientes con infecciones graves que suponen un riesgo grave a la vida.
- Para realizar un monitoreo de la epidemiología local y regional de los patrones de resistencia, para brindar información que permita guiar la selección de terapias empíricas.

- Para determinar los patrones de susceptibilidad a nuevos agentes antimicrobianos.

Así mismo, según las recomendaciones de la CLSI M11 (CLSI, 2018) edición 9, se deben realizar pruebas de susceptibilidad en los siguientes casos:

- a. infecciones graves y potencialmente mortales (entre las que están: bacteriemia, endocarditis, abscesos cerebrales). (Gajdács et al., 2017; Rodham et al., 2023).
- b. El microorganismo se aisló en cultivo puro o de un sitio corporal normalmente estéril. (Gajdács et al., 2017; Jenkins, 2001).
- c. Al requerir extender la terapia con antibióticos durante un período prolongado (en infecciones que afectan articulaciones, material de osteosíntesis, hueso o injertos) (Gajdács et al., 2017; Nolla et al., 2016).
- d. En caso de infecciones recurrentes o que no responden a la terapia empírica. (Gajdács et al., 2017).
- e. Cuando el agente causal es un anaerobio particularmente virulento con resistencia impredecible, por ejemplo: *C. innocuum*, *C. perfringens*, *C. ramosum*, entre otros. (Brook et al., 2013; Gajdács et al., 2017; Jenkins, 2001).
- f. Cuando se tienen datos limitados o inexistentes sobre las susceptibilidades del microorganismo causante de la patología.
- g. Al determinar resistencia del microorganismo contra el agente antimicrobiano.

1.4. Resistencia a los antimicrobianos del género *Clostridium* sp

La resistencia a los antimicrobianos ha presentado un incremento en las bacterias del género *Clostridium* sp. Estos cambios en la sensibilidad de las bacterias anaerobias, dificulta la elección de tratamientos empíricos adecuados, lo que podría ocasionar el fracaso terapéutico arriesgando la vida del paciente. (Brook et al., 2013).

El aislamiento, la identificación y la realización de pruebas de susceptibilidad de anaerobios de un sitio infectado, permiten la detección de resistencia a los antimicrobianos. (Brook et al., 2013).

Actualmente, la metodología gold standard para realizar la prueba de sensibilidad a los antimicrobianos es el método de dilución en agar, este es un método intensivo, difícil y requiere de mucho tiempo. También existen otras metodologías como: microdilución en caldo, disco difusión, test de gradiente. (Gajdács et al., 2017).

Las pruebas de gradiente (pruebas epsilométricas) son las pruebas más utilizadas en laboratorios clínicos para realizar la prueba de sensibilidad. Permite detectar heterorresistencias y es fácil de utilizar. (Brook et al., 2013; Gajdács et al., 2017).

La resistencia a los antimicrobianos ha incrementado durante las últimas tres décadas, se ha observado principalmente con: clindamicina, cloranfenicol, meropenem, moxifloxacina, amoxicilina-ácido clavulánico, cefoxitina, metronidazol, penicilina, piperacilina-tazobactam, fluoroquinolonas, clindamicina y cefalosporinas. (Brook et al., 2013; Wybo et al., 2014),

En el caso de la resistencia a la clindamicina, se da por una metilasa 23S de tipo macrólido-lincosamida-estreptogramina (MLS), usualmente es codificada por un gen *erm*. (Brook et al., 2013). En el caso del género *Clostridium* el porcentaje de resistencia es mayor de 10% (principalmente *C. difficile*). (Reissier et al., 2023).

Escasos aislamientos de *Clostridium sp* son resistentes a antibióticos de combinaciones de betalactámicos con inhibidor, por ejemplo, amoxicilina- ácido clavulánico. Específicamente en el caso de *C. perfringens* presenta un porcentaje de resistencia bajo, del 0 al 5%. La resistencia a los betalactámicos se puede dar por medio de tres mecanismos: inactivación enzimática, modificación del sitio de acción y disminución de la concentración enzimática por la presencia de porinas y/o bombas de eflujo. (Reissier et al., 2023).

Puede existir resistencia al metronidazol por medio de diferentes mecanismos: la disminución de la activación del fármaco, la limitación de la absorción o por reparación incrementada del ADN. La mayoría de los aislamientos resistentes al metronidazol tienen el gen *rdxA* mutado. Dentro de estos mecanismos de resistencia está la inactivación del profármaco, mediante la codificación de nitroimidazol reductasa, gracias a los genes *nim*, cuya función es transformar el metronidazol en un compuesto no tóxico. (Reissier et al., 2023). Los genes *nim* se pueden encontrar en plásmidos móviles, por lo que pueden adquirirse de forma fácil y afectar la eficacia del antimicrobiano. (Alauzet et al., 2019; Brook et al., 2013; Löfmark et al., 2010).

La resistencia a la Vancomicina es poco común, se asocia a un gen llamado VanG, (Stogios & Savchenko, 2020) y la resistencia al linezolid se asocia con la presencia del gen *cfr*, sin embargo, aún se requiere mayor investigación para confirmar si es el único mecanismo asociado. (Marín et al., 2015).

Según lo indicado por Cobo (2022), las especies de *Clostridium sp* han mostrado resistencia a todos los antimicrobianos, excepto al carbapenémico imipenem. (Cobo, 2022).

Específicamente en el caso de *Clostridium ramosum*, aproximadamente un 20% de los aislamientos son resistentes a la clindamicina.(Reissier et al., 2023).

Los aislamientos de *C. perfringens* muestran gran variabilidad en los datos de sensibilidad a la clindamicina, se ha determinado que menos del 20% de aislamientos de son resistentes. (Reissier et al., 2023; Tremp et al., 2020). Pueden tener resistencia a la penicilina, sin embargo, es un porcentaje muy bajo, desde 0% al 7.6%. (Pence, 2019).

La resistencia a la clindamicina en los aislamientos de *C. perfringens* ha presentado un incremento, llegando hasta el 14% (aislamientos a partir de sangre). (Pence, 2019). Otras especies de *Clostridium sp* como: *C. tertium*, *C. sporogenes*, *C. difficile*, *C. ramosum*, *C. innocuum* y *C. clostridioforme* presentan resistencia a la clindamicina en mayor proporción y en general a la mayoría de antimicrobianos.(Fongg et al., 2018; Ibnoukhatib et al., 2012).

Otras especies de *Clostridium sp* tienen tasas de resistencia a la penicilina mayores, desde el 12% hasta el 19%. Usualmente son susceptibles a combinaciones de B-lactámicos, carbapenémicos, metronidazol y tigeciclina. (Pence, 2019). No se ha documentado el porcentaje de actividad de la tetraciclina y doxiciclina contra los aislamientos bacterianos obtenidos a partir de muestras clínicas de origen humano. (Ibnoukhatib et al., 2012; Pence, 2019).

En el caso de Vancomicina, usualmente las CMI son bajas (no existen puntos de corte en las guías de CLSI para este antibiótico, solamente en el EUCAST), las excepciones son: *C. ramosum* (tiene CMI altas a la vancomicina) y *Clostridium innocuum* que tiene resistencia intrínseca a la vancomicina y a la cefoxitina, pero es sensible al metronidazol. (CLSI, 2024; Fongg, Drlica, et al., 2018; Pence, 2019). Dentro de los antibióticos que tienen actividad disminuida contra las especies de *Clostridium* están: ampicilina, aminoglucósidos y trimetoprim sulfametoxazol.(Ibnoukhatib et al., 2012).

2. JUSTIFICACIÓN.

Las infecciones óseas, de piel y tejidos blandos son comunes en pacientes luego de sufrir accidentes traumáticos, accidentes punzocortantes, así mismo, por infecciones espontáneas a causa de la microbiota endógena de la persona, luego de sufrir el accidente traumático. Los accidentes y traumas son uno de los problemas de salud más serios del mundo, sin embargo, no se ha reconocido su importancia a nivel de salud y han sido problemas desatendidos.

Las infecciones causadas por este tipo de accidentes ocupan el segundo lugar como principal causa de muerte después de los primeros tres o cuatro días después del trauma y son responsables del 80% de las muertes tardías en pacientes adultos con traumatismos. (Mathur, 2008) por lo tanto, el estudio de la resistencia a los antimicrobianos de los microorganismos pertenecientes al género *Clostridium* spp. en estos casos es prioritario.

A pesar de la importancia de conocer el perfil de resistencia de estos microorganismos anaerobios, la información disponible a nivel local de Costa Rica es limitada, esta realidad promueve el uso empírico de antimicrobianos, lo cual, puede ocasionar que se dé una respuesta clínica deficiente, que puede conllevar a una falla terapéutica, se ha demostrado que la falta de terapias antimicrobianas apropiadas o dirigidas al microorganismo específico, pueden ocasionar resistencia a los antimicrobianos. (Shuetz, 2014).

Se han evidenciado cambios en los datos de resistencia de estas bacterias anaerobias, mostrando una disminución de la susceptibilidad a los antimicrobianos, provocando fallos terapéuticos, aumento de estancias hospitalarias, aumento del gasto económico, entre otras, todo esto conlleva a efectos directos en la mortalidad y morbilidad de las enfermedades infecciosas, además de efectos indirectos en el desarrollo y economía de los países. (OMS, 2015)

Es por esto, que el presente trabajo busca evaluar la presencia de resistencia a los antimicrobianos de uso más común en el tratamiento de diversas especies de *Clostridium*, aisladas a partir de distintos sitios anatómicos. Los resultados obtenidos permitirán obtener una visión del estado actual de la resistencia de estos microorganismos en Costa Rica y así, brindar información crítica que incidirá en la elección del tratamiento adecuado según la especie aislada.

3. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Los aislamientos obtenidos a partir de muestras clínicas presentan altos valores de concentración mínima inhibitoria y altos porcentajes de resistencia a los antimicrobianos clindamicina, metronidazol, doxiciclina, vancomicina, amoxicilina + ácido clavulánico y linezolid?

4. HIPÓTESIS

Los aislamientos de *Clostridium* spp. obtenidos a partir de muestras clínicas de piel, tejidos blandos y hueso durante el periodo 2020-2022 en un hospital de trauma, presentan altas concentraciones inhibitorias mínimas (CIM) y altos porcentajes de resistencia a los antimicrobianos clindamicina, metronidazol, doxiciclina, vancomicina, amoxicilina + ácido clavulánico y linezolid.

5. OBJETIVOS:

5.1 Objetivo general:

- 1 Determinar el perfil de resistencia a clindamicina, metronidazol, doxiciclina, vancomicina, amoxicilina + ácido clavulánico y linezolid de las cepas de *Clostridium spp.*, obtenidas a partir de muestras clínicas de hueso, piel y tejidos blandos en un Hospital de Trauma durante el período 2020-2022.

5.2 Objetivos específicos:

1. Determinar la concentración mínima inhibitoria mediante el empleo del método epsilométrico (E-test®) a los antimicrobianos: clindamicina, metronidazol, doxiciclina, vancomicina, amoxicilina + ácido clavulánico y linezolid de los aislamientos en estudio.
2. Comparar los datos de resistencia a los antimicrobianos clindamicina, metronidazol, doxiciclina, vancomicina, amoxicilina + ácido clavulánico y linezolid de los aislamientos estudiados contra los datos reportados en la literatura a nivel mundial.

6. DISEÑO EXPERIMENTAL

6.1 Cepas en estudio

Se realizó un análisis de un total de 52 aislamientos bacterianos obtenidos a partir de muestras clínicas de hueso, piel y tejidos blandos recolectados en un hospital de trauma de clase A de Costa Rica, durante el periodo 2020-2022. El análisis se realizó en el Laboratorio Clínico y Banco de Sangre de la Universidad de Costa Rica.

Los aislamientos recuperados a partir de muestras clínicas se mantuvieron criopreservados en viales de marca Microbank™ a -70°C. Para la recuperación de estas se inocularon las perlas de congelación en medio agar Brucella suplementado con vitamina K (1 µg/ml de menadiona) y hemina (5 µg/ml) (BRU), y se incubaron durante 48 horas a una atmósfera anaerobia (cámara Bactronez, 90% CO₂, 5% N₂, 5% H₂).

6.2 Prueba de sensibilidad a los antimicrobianos

A partir del crecimiento bacteriano obtenido se realizó un repique, en agar BRU, y se incubaron en las mismas condiciones anteriores. Con este crecimiento se realizó la prueba de sensibilidad a los antimicrobianos mediante la técnica del E-test®.

Para esto, se realizó una suspensión al 0.5 McFarland en caldo Brucella suplementado a partir del crecimiento bacteriano obtenido, esta suspensión se inoculó en agar BRU 4mm de grosor.

Luego de 10 minutos, se colocó la correspondiente tira de E-test® de cada antimicrobiano: clindamicina, metronidazol, doxiciclina, vancomicina, amoxicilina + ácido clavulánico y linezolid. Entonces, las placas se incubaron en las mismas condiciones anteriores de anaerobiosis. Finalmente, se realizó la lectura de la concentración mínima inhibitoria (CMI), observando el punto a partir del cual se inhibe el crecimiento bacteriano.

6.3 Concentraciones inhibitorias mínimas (CMI).

Se realizó la lectura e interpretación de las CMI obtenidas de los 52 aislamientos de *Clostridium* sp., los puntos de corte de los antibióticos amoxicilina-ácido clavulánico, metronidazol y clindamicina se definieron a partir de la guía "M100, 34rd edition: Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 34rd ed. CLSI supplement M100. (CLSI, 2024) y los puntos de corte de la vancomicina a partir de la guía del European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST, 2024).

Se determinó la CMI₅₀ y CMI₉₀ de la totalidad de antimicrobianos evaluados, definiéndose como los percentiles 50 y 90 de inhibición del crecimiento de las CMI obtenidas para cada uno.

Los antibióticos doxiciclina y linezolid no poseen puntos de corte establecidos en las guías de la CLSI y tampoco están definidos en la guía del EUCAST.

Según la guía del CLSI, los rangos de referencia para los antibióticos evaluados se observan en el cuadro 1.

Cuadro 1. Rangos de referencia de los antibióticos amoxicilina-ácido clavulánico, clindamicina y metronidazol, según la CLSI en su edición 34. Fuente: Modificado a partir de la guía CLSI, 2024.

Antibiótico	Interpretación (µg/mL)		
	Sensible	Intermedio	Resistente
Amoxicilina- ácido clavulánico	≤ 4/2	8/4	>16/8
Metronidazol	≤ 8	16	≥32
Clindamicina	≤ 2	4	≥8

Para el caso del antibiótico vancomicina, el EUCAST 2024, indica que el rango de referencia para los aislados de *Clostridium perfringens* se clasifican como sensible al antibiótico si la CMI es igual o menor a 2 µg/mL, si posee una concentración a mayor a 2 µg/mL se define como resistente. Para el caso de otros géneros de *Clostridium* se define como resistente si la CIM es mayor a 2µg/mL, si el valor es menor no se puede interpretar como sensible, pero si se recomienda el uso del agente terapéutico (EUCAST, 2024).

Para los aislamientos que presentaron patrones de resistencia (valores de CMI resistentes según las guías consultadas), específicamente en el caso de clindamicina y vancomicina, tal como se muestra en el cuadro 1. Si el resultado al antibiótico clindamicina fue ≥8 µg/mL (CLSI, 2024) o en el caso de la vancomicina si el valor de CMI era >2 µg/mL (EUCAST, 2024), se realizaba una confirmación del resultado, realizando el reproceso de la prueba desde el inicio, por lo que, los datos de resistencia se corroboraron para todos los casos. De igual manera se corroboró la pureza del aislamiento, se realizó la observación del crecimiento bacteriano y se confirmó la identificación mediante el análisis de proteómica por medio del equipo MALDI-TOF (Maldi tof Microflex, Bruker).

6.4 Controles empleados

Se realizó un control de calidad de forma conjunta, utilizando la misma metodología mencionada anteriormente. Para estas pruebas se emplearon las cepas ATCC (American Type Culture Collection) como controles: ATCC^{®a} 25285 *Bacteroides fragilis* y ATCC^{®a} 43055 *Eggerthella lenta*.

Así mismo, se realizó un control del caldo Brucella suplementado, que consistió en inocular 5 gotas de este en agar BRU de 4mm de grosor para corroborar la esterilidad; también, se realizó un control de contaminación ambiental que consistía en colocar una placa de agar BRU de 4mm de grosor, con la tapa abierta dentro de la zona donde se realizó el experimento, para corroborar que no existía contaminación interna de la cámara de anaerobiosis. Todos los controles de calidad obtuvieron resultados satisfactorios.

7. RESULTADOS:

Se realizó la lectura e interpretación de las PSA y se obtuvo como resultados los siguientes valores: para la clindamicina se obtuvo una CMI₅₀ de 2 µg/mL, una CMI₉₀ de 12 µg/mL y un porcentaje de resistencia del 15.4%. El metronidazol presentó una CMI₅₀ de 0.15 µg/mL y una CMI₉₀ de 1.5 µg/mL, no se detectó resistencia hacia este antimicrobiano. La vancomicina presentó una resistencia del 55.8%, con una CMI₅₀ de 3 µg/mL y una CMI₉₀ de 4 µg/mL. En el caso de la amoxicilina-ácido clavulánico no se detectó resistencia y obtuvo una CMI₅₀ de 0.064 µg/mL y una CMI₉₀ de 0.75 µg/mL. Al no existir puntos de corte para el linezolid y la doxiciclina no se pudo detectar la presencia de resistencia a estos antimicrobianos, sin embargo, para la doxiciclina se obtuvo una CMI₅₀ de 0.75 µg/mL y una CMI₉₀ de 4 µg/mL, el linezolid presentó una CMI₅₀ de 1.5 µg/mL y una CMI₉₀ de 4 µg/mL. (Cuadro 2).

Cuadro 2. Concentraciones inhibitorias mínimas obtenidas a los antimicrobianos ensayados (clindamicina, metronidazol, vancomicina, amoxicilina-ácido clavulánico, linezolid y doxiciclina), determinados a partir de aislamientos del género *Clostridium* (n=52) obtenidos a partir de muestras de infecciones de piel, tejidos blandos y hueso de un hospital del Trauma en Costa Rica. Fuente: Elaboración propia.

Antimicrobiano	Aislamientos (n)	Concentración mínima inhibitoria (µg/mL)			% R
		CMI ₅₀	CMI ₉₀	Rango	
Clindamicina	52	2	12	0.016- >256	15.4
Metronidazol	52	0.15	1.5	0.016-4	0
Vancomicina	52	3	4	1-24	55.8
Amoxicilina /ácido clavulánico	52	0.064	0.75	0.016-1.5	0
Doxiciclina	52	0.75	4	0.016-12	N/A
Linezolid	52	1.5	4	0.032-6	N/A

Cuadro 3. Perfiles de CMI₅₀ y CMI₉₀ obtenidos para los antimicrobianos doxiciclina, linezolid, vancomicina, amoxicilina + ácido clavulánico, metronidazol y clindamicina a partir de los aislamientos bacterianos distribuidos según el género *Clostridium* (n=52) obtenidos a partir de muestras de infecciones de piel, tejidos blandos y hueso de un hospital de Trauma en Costa Rica. Fuente: Elaboración propia.

Microorganismo (n)	Concentración mínima inhibitoria (µg/mL)											
	Doxiciclina		Linezolid		Vancomicina		Amoxicilina + ácido clavulánico		Metronidazol		Clindamicina	
	CMI ₅₀	CMI ₉₀	CMI ₅₀	CMI ₉₀	CMI ₅₀	CMI ₉₀	CMI ₅₀	CMI ₉₀	CMI ₅₀	CMI ₉₀	CMI ₅₀	CMI ₉₀
<i>C. perfringens</i> (22)	1.5	4	1	1.5	2	3	0.032	0.094	0.75	1.5	1.5	6
<i>P. bifermentans</i> (4)	0.023	0.047	0.5	1	2	2	0.016	0.016	0.19	0.25	0.25	0.38
<i>C. sordelli</i> (4)	3	4	1.5	2	3	3	0.016	0.032	1.5	2	3	8
<i>Clostridium spp. (Otros*)</i> (22)	0.047	2	1.5	4	4	16	0.25	1	0.125	0.5	2	16

*Otros: *C. tertium* (n=2), *C. glycolicum* (n=1), *C. indolis* (n=3), *C. aerotolerans* (2), *C. celecrescens* (n=2), *C. histolyticum* (n=2), *C. sphenoides* (n=2), *C. subterminale* (n=1), *C. butyricum* (n=1), *C. limosum* (n=2), *C. ramosum* (n=2), *C. sporogenes* (n=2).

En el cuadro 3 se muestran los resultados de las CMI₅₀ y CMI₉₀ obtenidos para los antimicrobianos doxiciclina, linezolid, vancomicina, amoxicilina + ácido clavulánico, metronidazol y clindamicina según cada especie de *Clostridium sp* evaluada, para el caso de *C. perfringens* se obtuvo una CMI₅₀ de 1.5 µg/mL para la doxiciclina y de 1.0 µg/mL para linezolid, 2 µg/mL en el caso de vancomicina, 0.032 µg/mL para el antibiótico amoxicilina + ácido clavulánico, 0.75 µg/mL para el metronidazol y 1.5 µg/mL en el caso de la clindamicina. Además de una CMI₉₀ de 4 µg/mL para doxiciclina, de 3 µg/mL para la vancomicina, de 1.5 µg/mL para linezolid, 6 µg/mL para la clindamicina, 1.5 µg/mL para el caso del metronidazol, y 0.094 µg/mL para la amoxicilina + ácido clavulánico.

P. bifermentans obtuvo una CMI₅₀ de 0.023 µg/mL y CMI₉₀ 0.047 µg/mL para doxiciclina, así como una CMI₅₀ de 0.5 µg/mL y CMI₉₀ de 1 µg/mL para linezolid. Se obtuvo CMI₅₀ de 2 µg/mL y CMI₉₀ 2 µg/mL para vancomicina, una CMI₅₀ de 0.016 µg/mL y CMI₉₀ 0.016 µg/mL para amoxicilina + ácido clavulánico, con el caso del metronidazol se obtuvo una CMI₅₀ de 0.19 µg/mL y CMI₉₀ 0.25 µg/mL, en el caso de la clindamicina se obtuvo CMI₅₀ de 0.023 µg/mL y CMI₉₀ 0.047 µg/mL.

Para el caso de *C. sordelli* se obtuvo una CMI₅₀ de 3 µg/mL y CMI₉₀ de 4 µg/mL para doxiciclina, así como una CMI₅₀ de 1.5 µg/mL y CMI₉₀ de 2 µg/mL para linezolid, en el

caso del metronidazol se obtuvo CMI₅₀ de 1.5 µg/mL y CMI₉₀ de 2 µg/mL, con respecto a la vancomicina se obtuvo una CMI₅₀ de 3 µg/mL y CMI₉₀ de 3 µg/mL, la amoxicilina + ácido clavulánico obtuvo una CMI₅₀ de 0.016 µg/mL y CMI₉₀ 0.032 µg/mL y para el caso de clindamicina, se obtuvo CMI₅₀ de 3 µg/mL y CMI₉₀ 8 µg/mL.

En el caso de otras especies de *Clostridium* se obtuvo una CMI₅₀ de 0.047 µg/mL y CMI₉₀ de 2 µg/mL para doxiciclina, así como una CMI₅₀ de 1.5 µg/mL y CMI₉₀ de 4 µg/mL para linezolid. Para la vancomicina se obtuvo una CMI₅₀ de 4 µg/mL y CMI₉₀ de 16 µg/mL, la amoxicilina + ácido clavulánico obtuvo una CMI₅₀ de 0.25 µg/mL y CMI₉₀ 1 µg/mL y para el metronidazol se obtuvo una CMI₅₀ de 0.125 µg/mL y CMI₉₀ 0.5 µg/mL.

El cuadro 4 muestra los resultados de porcentaje de resistencia según cada especie de *Clostridium* analizada, en el caso de *C. perfringens* se obtuvo un 13.6% de resistencia a la clindamicina, un 18.2% a la vancomicina, no se detectó resistencia para el metronidazol y amoxicilina-ácido clavulánico. Los aislamientos de *P. bifermentans* no presentaron resistencia a los antimicrobianos analizados. Los aislamientos de *C. sordelli* presentan un 75% de resistencia a la clindamicina, un 100% de resistencia a la vancomicina, mientras que no presentaron resistencia al metronidazol ni al ácido clavulánico. Para el caso de las otras especies de *Clostridium*, se obtuvo un 45.5% de resistencia a la clindamicina, un 95.5% de resistencia a la vancomicina y no se detectó resistencia al metronidazol ni amoxicilina con ácido clavulánico.

Cuadro 4. Porcentajes de resistencia a los antimicrobianos de aislamientos bacterianos distribuidos según el género *Clostridium* (n=52), obtenidos a partir de muestras de infecciones de piel, tejidos blandos y hueso de un hospital de Trauma en Costa Rica. Fuente: Elaboración propia.

Microorganismo	Porcentaje de resistencia (%)						
	Cantidad (n)	Clindamicina	Metronidazol	Vancomicina	Doxiciclina	Linezolid	Amoxicilina + ácido clavulánico
<i>C. perfringens</i>	22	13.6	0	18.2	ND	ND	0
<i>P. bifermentans</i>	4	0	0	0	ND	ND	0
<i>C. sordelli</i>	4	75	0	100	ND	ND	0
<i>Clostridium</i> spp. (Otros*)	22	45.5	0	95.5	ND	ND	0

*Otros: *C. tertium* (n=2), *C. glycolicum* (n=1), *C. indolis* (n=3), *C. aerotolerans* (2), *C. celecrescens* (n=2), *C. histolyticum* (n=2), *C. sphenoides* (n=2), *C. subterminale* (n=1), *C. butyricum* (n=1), *C. limosum* (n=2), *C. ramosum* (n=2), *C. sporogenes* (n=2).

8. DISCUSIÓN.

La prueba de sensibilidad a los antimicrobianos permite brindar una terapia dirigida según el microorganismo identificado, esto es necesario debido al incremento de resistencias a los antimicrobianos reportadas anualmente, provocando una falla en la terapia empírica proporcionada. (Schuetz & Lavrova, 2014).

Para realizar la PSA se requiere una muestra recolectada de forma adecuada, tiempo, insumos (medios de cultivo específicos para bacterias anaerobias, atmósfera anaeróbica, antimicrobianos, entre otros), personal calificado y es costoso. (Brook et al., 2013; Eberly et al., 2022).

La CLSI recomienda las metodologías dilución en agar (gold standard) y microdilución en caldo, además, indica que otras metodologías se deben comparar con el método de referencia. (Brook et al., 2013; Schuetz & Lavrova, 2014).

La técnica epsilométrica (Etest®) consiste en una tira plástica con un gradiente de concentración de antimicrobiano de un lado y del otro tiene una escala de interpretación de CMI. La CMI se obtiene al leer la concentración donde la zona de inhibición intercepta la tira. (Brook et al., 2013; Glupczynski et al., 2009; Koru & Ozyurt, 2008; Letournel-Glomaud et al., 2003).

Esta técnica brinda resultados precisos, tiene la capacidad de obtenerse una CMI, correlaciona muy bien con el procedimiento de referencia (Brook et al., 2013; Glupczynski et al., 2009; Schuetz & Lavrova, 2014). Es una técnica sencilla, amigable con el usuario, lo que permite adaptarla para realizar las pruebas de susceptibilidad en la mayoría de los laboratorios clínicos, se pueden evaluar múltiples antimicrobianos. (Letournel-Glomaud et al., 2003; Schuetz & Lavrova, 2014).

Según Koru & Ozyurt, 2008, los resultados del análisis realizado, los índices de susceptibilidad obtenidos por medio de dilución en agar coinciden con los obtenidos mediante la técnica de Etest®, Biomeriux. (Koru & Ozyurt, 2008).

Dentro de las limitaciones de esta técnica están: puede llegar a ser costoso si se emplea para vigilancia epidemiológica y que la determinación de la CIM de metronidazol se puede afectar en caso de que no se cumpla con los requerimientos de anaerobiosis estricta. (Schuetz & Lavrova, 2014).

Una limitante de esta técnica es la lectura de los resultados de la PSA, puede ser complicada, ya que el crecimiento bacteriano podría dificultar la observación del punto de corte, tal como se observa en la figura 1, donde el crecimiento de este microorganismo es confluyente casi imperceptible. Se debe realizar la interpretación con precaución, para evitar una mala interpretación y reporte erróneo de la CMI.



Figura 1. Resultados de PSA de doxiciclina y clindamicina de un aislamiento de *C. perfringens*. Fuente: Elaboración propia.

La figura 2 muestra un resultado de heteroresistencia a la doxiciclina, este tipo de resultados se corroboran para evitar errores y descartar contaminación con otros microorganismos.



Figura 2. Resultados de PSA de doxiciclina y vancomicina de un aislamiento de *C. sordelli*. Fuente: Elaboración propia.

Con respecto a los resultados obtenidos, se puede observar en el cuadro 2 que los aislamientos presentan un alto porcentaje de resistencia a la vancomicina con un 55.8% y con un amplio rango de CMI de (1 a 24) µg/mL. Algunos estudios han reportado la presencia de genes de resistencia a la vancomicina en especies de *Clostridium* spp,

por ejemplo, en algunos aislamientos de *C. difficile*. (Sanko et al., 2020), sin embargo, esta resistencia no se presenta en la mayoría de los microorganismos analizados. En el caso de *C. perfringens*, no se ha detectado la resistencia de forma regular, ya que generalmente son susceptibles a la vancomicina. (Sanko et al., 2020).

Los resultados a nivel local son muy diferentes a los reportados en estudios en otros sectores del mundo, por ejemplo, en un estudio realizado por Yunoki y colaboradores en Japón, durante el año 2016, se obtuvo como resultado que el 85.5% de los aislamientos eran sensibles a la vancomicina, con un rango de CMI entre (<0.25 a >2) $\mu\text{g/mL}$, en comparación con el rango obtenido en este estudio (1 a 24) $\mu\text{g/mL}$. (Yunoki et al., 2016).

Según el estudio realizado en Kuwait, por Jamal y colaboradores en el año 2010, los porcentajes de resistencia de las especies de *Clostridium sp* ($n=25$) durante el periodo comprendido entre 2002 al 2007 para el antibiótico vancomicina fue de un cero por ciento, con una CMI_{90} de 1.5 $\mu\text{g/mL}$. (Jamal et al., 2010). De igual manera, estos resultados difieren a los obtenidos a nivel local.

Durante el año 2015, Novak et al, realizó un estudio de aislamientos de *Clostridium sp* ($n=4$) en Croacia, donde todos los aislamientos presentaron sensibilidad a la vancomicina. (Novak et al., 2015).

Se realizó un estudio en Korea, durante el año 2010, Lee y colaboradores realizaron un análisis de 15 aislamientos de *C. perfringens* donde se determinó un rango de CMI de (0.25 a 1) $\mu\text{g/mL}$, con una CMI_{50} y CMI_{90} de 0.5 $\mu\text{g/mL}$ (Lee et al., 2010), se puede observar en el cuadro 3 que los resultados a nivel local son diferentes para esta especie, con una CMI_{50} de 2 $\mu\text{g/mL}$ y CMI_{90} de 3 $\mu\text{g/mL}$.

La vancomicina se describe como un antibiótico efectivo contra todos los anaerobios Gram positivos. (Brook et al., 2013). La mayoría de las especies de *Clostridium spp.* son inhibidos al emplear 2 mg/L de vancomicina.(Dubreuil & Odou, 2010).

La presencia de este porcentaje elevado de resistencia puede ser causado por el uso indiscriminado del glucopéptido vancomicina. La vancomicina se emplea para el tratamiento de infecciones de tejido blando y osteomielitis causadas por cocos Gram positivos como *S. aureus* resistente a la meticilina (Burnham & Kollef, 2018), es posible que, al tratar estos microorganismos se dé una presión selectiva hacia los *Clostridium spp.*, adicionalmente, se emplea para el tratamiento de infecciones por microorganismos anaerobios, por lo que podría emplearse como primera elección para la terapia empírica.

Se puede observar en el cuadro 2 los resultados de la evaluación de la clindamicina, se obtuvo un porcentaje de resistencia de 15.4%, y un rango de CMI de

(0.016 a >256) µg/mL. La resistencia a la clindamicina se ha detectado a nivel mundial, se estima que existe un porcentaje de resistencia mayor al 10% mundialmente, un 16 a 30% de resistencia en Estados Unidos, Europa y Korea.(Reissier et al., 2023).

Yunoki y colaboradores reportaron un 27.3% de resistencia, en un estudio realizado durante el año 2016 en Japón (Yunoki et al., 2016). Ali y colaboradores detectaron un porcentaje de resistencia del 8.4%, en Irlanda durante los años 2010-2020. (Ali et al., 2022). Estos resultados son similares a los obtenidos por Sarvari y compañía en Hungría, durante el mismo periodo. (Reissier et al., 2023). Maraki y colaboradores detectaron un 18.9 % de resistencia en los aislamientos de *Clostridium* spp durante el periodo comprendido entre 2017 y 2019, en Grecia.(Maraki et al., 2020).

El equipo de Glupczynski, en Bélgica durante el año 2009 evaluó el porcentaje de resistencia de 19 aislamientos de *Clostridium* spp, obteniendo un 26%de resistencia a la clindamicina. (Glupczynski et al., 2009). Con respecto a la información existente de la India y el este de Asia, según Sood et al, durante el año 2018, se analizaron 53 aislamientos de *Clostridium* sp, donde se detectó un 47.1% de resistencia a la clindamicina.

Un estudio realizado por Veloo et al., en el año 2019, analizó muestras obtenidas en diferentes países europeos que conforman el grupo ESGAI (Grupo de estudio de infecciones anaeróbicas de la ESCMID), se obtuvo como resultado un rango de resistencia del 20 % al 60% a la clindamicina en los países: Bélgica, Alemania, Eslovenia, Turquía, Hungría y los Países Bajos.(Veloo et al., 2019).

Se evidencia un porcentaje de resistencia a la clindamicina variable según la zona geográfica donde se realiza el análisis, existe una mayor prevalencia de porcentajes de resistencia mayores al 10%, los resultados locales son similares a los reportados por otros investigadores.

La clindamicina, al ser un antimicrobiano que se recomienda en el tratamiento de infecciones por *Streptococcus* spp. β-hemolíticos del grupo A, *Staphylococcus aureus* meticilina sensibles causantes de infecciones de tejidos blandos y óseas, así mismo, contra infecciones por bacterias anaerobias se puede emplear como terapia empírica, aumentando la exposición de las bacterias a este antibiótico, favoreciendo la aparición de resistencia antimicrobiana.(Brett et al., 2005).

No se detectaron resistencias para el metronidazol y la amoxicilina con ácido clavulánico, todos los aislamientos presentaron sensibilidad al metronidazol con un rango de (0.016- 4) µg/mL, para el caso de la amoxicilina con ácido clavulánico con un rango de (0.016- 1.5) µg/mL.

Estos resultados coinciden con los obtenidos por Glupczynski y colaboradores, en Bélgica durante el año 2009, donde el porcentaje de resistencia de *Clostridium sp* obtenido fue de 0%. (Glupczynski et al., 2009).

Un estudio realizado por Veloo et al., en el año 2019, analizó muestras obtenidas en diferentes países europeos: Croacia, Kuwait, Alemania, Bélgica, Francia, Turquía, Eslovenia, Hungría, Suiza y Países Bajos, estos países forman parte del grupo ESGAI (Grupo de estudio de infecciones anaeróbicas de la ESCMID), se obtuvo como resultado que no se encontró resistencia al metronidazol en los aislamientos de los países: Francia, Bélgica, Eslovenia, Turquía y Suiza, en el resto de países si se detectó resistencia, sin embargo, el porcentaje fue menor al 20 %. (Veloo et al., 2019).

Sood y colaboradores realizaron el análisis de aislamientos recolectados en la India y el este de Asia, durante el año 2018, donde se detectó un 15% de resistencia al metronidazol, a diferencia de los datos obtenidos a nivel local, ya que no se detectó resistencia al metronidazol. (Sood et al., 2021).

Según el estudio realizado en Kuwait por Jamal et al en el año 2010, los porcentajes de resistencia de las especies de *Clostridium sp* (n=25) durante el periodo comprendido entre 2002 al 2007 fueron del 0 % en el caso de amoxicilina con ácido clavulánico y metronidazol (Jamal et al., 2010).

Durante el año 2015, Novak et al, realizó un estudio donde no se detectó resistencia hacia los antimicrobianos amoxicilina con ácido clavulánico y metronidazol, sin embargo, podrían existir limitaciones con estos resultados, debido al número de aislamientos analizados. Los resultados de este estudio coinciden con los obtenidos a excepción de la vancomicina, que si presentó resistencia. (Novak et al., 2015).

Según lo reportado en la literatura, los datos obtenidos en este estudio difieren a los porcentajes de sensibilidad reportados para cada antimicrobiano, según la especie de *Clostridium sp*. Se reporta un 18.2% de resistencia a la vancomicina y un 13.6% a la clindamicina en *C. perfringens*, a diferencia de los valores reportados por Stevens et al en 2012, donde se reporta un porcentaje de sensibilidad del 100% para ambos antimicrobianos. (Stevens et al, 2012).

Durante el año 2016, se realizó el análisis de aislamientos anaerobios, obtenidos en diferentes centros de salud de Estados Unidos, entre los periodos 2007-2009 y 2010-2012. Este estudio fue realizado por Hastey y colaboradores, dentro de los hallazgos se tiene que durante el periodo 2007-2009 no hubo aislamientos de *Clostridium perfringens* (n=73) resistentes al metronidazol ni a la clindamicina, de los aislamientos de

Clostridium sp (n=43), se detectó un 21% de resistencia a la clindamicina y no hubo resistencia al metronidazol durante ese periodo. Para el periodo comprendido entre 2010-2012, un 7% de los aislamientos de *C. perfringens* (n=348) presentó resistencia a la clindamicina y un no se detectó resistencia al metronidazol, por otra parte, un 21% de los aislamientos de *Clostridium sp* (n= 266) presentaron resistencia a la clindamicina, mientras que un 1% mostró resistencia al metronidazol.(Hastey et al., 2016).

Se puede observar que los resultados obtenidos por el equipo de Hastey difieren entre sí entre los periodos analizados, así mismo, con los resultados obtenidos localmente. Al realizar la comparación entre los resultados de aislamientos de *Clostridium sp* hubo mucha diferencia, ya que los valores de resistencia a la clindamicina de forma local fueron del 45.5 % y no se detectó resistencia al metronidazol. Para los aislamientos de *C. perfringens* hubo una diferencia de casi el doble en comparación con el estudio de Hastey, se obtuvo un 13.6% de resistencia a clindamicina y localmente no se detectó resistencia al metronidazol, a diferencia de los resultados obtenidos por Hastey, que obtuvo un 1% de resistencia. (Hastey et al., 2016).

Con respecto a los resultados de porcentaje de resistencia a la vancomicina, en el caso de *C. perfringens* se obtuvo un 18.2 % y en el caso de los *Clostridium spp.* un 95.5 %. No se detectó resistencia a la amoxicilina + ácido clavulánico, tal como se ha reportado en diversos estudios a nivel mundial. Sarvari y colaboradores realizaron un estudio de aislamientos de *C. perfringens* en Hungría durante el año 2020, en este estudio se obtuvo un porcentaje de resistencia del 3.8 % para la clindamicina y no detectaron resistencia para el metronidazol ni la amoxicilina + ácido clavulánico. Con respecto a los aislamientos de *Clostridium spp.* no se detectó resistencia para el metronidazol ni la amoxicilina + ácido clavulánico, pero si se obtuvo un porcentaje de resistencia del 8.5 % para la clindamicina.(Sárvári & Schoblocher, 2020).

Según los datos de antibiograma acumulado reportado por la CLSI, 2024, existe un 12 % de resistencia a la clindamicina y un 0 % de resistencia al metronidazol en los aislamientos de *C. perfringens* probados durante el periodo 2012 al 2016 en Estados Unidos. (CLSI, 2024).

El grupo de estudio de Maraki y colaboradores, no detectaron resistencia a la vancomicina en aislamientos de *C. perfringens* del durante el periodo 2017-2019.(Maraki et al., 2020). De igual manera, el estudio realizado por Lee & et al en Korea no se detectó resistencia a la vancomicina en estos aislamientos. (Lee et al., 2010).

Para el caso de *C. sordelli* se obtuvo un 75% de resistencia a la clindamicina, un 100% de resistencia a la vancomicina, mientras que no presentaron resistencia al metronidazol, según lo reportado, la clindamicina tiene un porcentaje de sensibilidad del 94% y la vancomicina 100%. En el caso de *P. bifementans*, los resultados fueron los

esperados, 100% de sensibilidad para los antimicrobianos analizados.(Stevens et al., 2012).

Estos análisis muestran gran diferencia entre los resultados obtenidos entre diferentes zonas geográficas, se puede pensar que estos resultados pueden ser afectados por el uso indiscriminado de antimicrobianos, principalmente de vancomicina y de clindamicina.

No fue posible determinar el porcentaje de resistencia de la doxiciclina y del linezolid, ya que no existen puntos de corte establecidos por las guías consultadas, pero si fue posible realizar la determinación de valores de CMI₅₀ y CMI₉₀.

Se puede observar en el cuadro 1 que se obtuvo una CMI₅₀ de 0.75 µg/mL y CMI₉₀ de 4 µg/mL, con un rango de (0.016- 12) µg/mL para la doxiciclina, para el linezolid, la CMI₅₀ es de 1.5 µg/mL y la CMI₉₀ de 4 µg/mL, con un rango de (0.032- 6) µg/mL. El cuadro 3 muestra los resultados de CMI₅₀ y CMI₉₀ para la doxiciclina y el linezolid, según las especies analizadas.

El estudio realizado por Wybo y colaboradores en el año 2014 en Bélgica, permitió determinar el rango de CMI de (0.25 a 16) µg/mL, una CMI₅₀ de 2 µg/mL y CMI₉₀ de 4 µg/mL al linezolid (Wybo et al., 2014), por su parte, Yunoki, et al determinaron un rango de CMI de (≤ 1 a 8) µg/mL, una CMI₅₀ de ≤ 1 µg/mL y CMI₉₀ de 4 µg/mL para el linezolid.(Yunoki et al., 2016). Estos resultados permiten comparar los resultados locales con los obtenidos en otros centros, los rangos de CMI obtenidos para el antimicrobiano linezolid son similares a los reportados por Wybo et al y Yunoki et al.

Con respecto a la doxiciclina existen escasos registros de resultados de pruebas de susceptibilidad realizadas con aislamientos de *Clostridium* spp., Schaumann y colaboradores determinaron la CMI₅₀ y CMI₉₀ de doxiciclina para 29 aislamientos de *Clostridium* spp., obteniendo como resultado una CMI₅₀ de ≤ 0.03 µg/mL y CMI₉₀ de 4 µg/mL (Schaumann et al., 2000), estos resultados son muy similares a los obtenidos en este estudio. Es necesario ampliar el análisis de las PSA aumentando el número de aislamientos, tipos de muestras y zonas geográficas, para obtener datos robustos y brindar más información sobre el comportamiento con este antimicrobiano.

La doxiciclina se emplea en conjunto con otros antimicrobianos como el metronidazol para el tratamiento de infecciones por bacterias anaerobias (Brook, 2016), además, se emplea en el tratamiento de infecciones de piel y tejidos blandos causadas por MRSA (LaPlante et al., 2008), por lo que, es importante realizar un uso adecuado de este antimicrobiano para evitar el desarrollo de resistencia.

Se puede analizar a partir de todos los resultados obtenidos en este estudio que, existe resistencia a la clindamicina en todas las especies de *Clostridium* spp. excepto en *P. bifementans*. Es importante puntualizar que se ha presentado un aumento a este porcentaje de resistencia a la clindamicina conforme transcurre el tiempo y la exposición a este antimicrobiano, provocando una presión selectiva sobre las bacterias, se ha observado un incremento del 32.4% en los últimos 20 años.(Sood et al., 2021).

En el caso de los aislamientos analizados en este estudio, se puede evidenciar una alta resistencia registrada a la vancomicina, seguida por la resistencia a la clindamicina. Ambos antibióticos conforman una parte fundamental en el tratamiento de infecciones de tejidos blandos e infecciones óseas, por lo que, se puede dar presentar presión selectiva y generar resistencia al estar expuestos a grandes cantidades de antimicrobianos.

9. CONCLUSIONES:

El método epsilométrico (E-test®) es fácil de emplear, permite obtener resultados precisos y concisos de CMI a los antimicrobianos estudiados, tiene amplia variedad de antimicrobianos disponibles, los resultados obtenidos son comparables con los obtenidos mediante el método de referencia (dilución en agar). Permite disminuir los tiempos de procesamiento y reporte de resultados. Esta metodología es una excelente opción para emplear en los laboratorios clínicos, para poder brindar este tipo de información y resolver esta necesidad presente en algunas áreas del continente. Dentro de los aspectos poco favorables está el costo, podría ser alto y se requiere seguir el protocolo indicado por el fabricante. El análisis de los aislamientos fue accesible, se obtuvieron resultados de forma rápida y permitió detectar heterorresistencias a los antimicrobianos: metronidazol y doxiciclina.

Existen pocos reportes de estudios de pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos a nivel del continente americano, aún menos a nivel de Costa Rica. Hay reportes de estudios realizados principalmente en Europa, India y Estados Unidos, a nivel centroamericano no hay gran cantidad de datos disponibles. Dentro de los datos reportados, se evidencia un elevado aumento de la resistencia a la clindamicina y ya se ha evidenciado resistencia al metronidazol, lo cual es preocupante, se requiere continuar realizando estudios epidemiológicos del estado actual de las resistencias a los antimicrobianos en bacterias anaerobias. Los resultados de este estudio coinciden en el estado actual de la resistencia a la clindamicina, obteniendo un 15.4%. Además de un 55.8% de resistencia a la vancomicina, totalmente contrario a lo reportado en la literatura, que se espera un 100% de sensibilidad a este agente.

El aumento de infecciones por accidentes de tránsito, lesiones punzocortantes, entre otros tipos de accidentes que afectan los huesos, la piel y tejidos blandos, promueven el uso de antimicrobianos de forma indiscriminada, esto puede favorecer la presión selectiva de los microorganismos y la resistencia a los antimicrobianos, por ejemplo, la vancomicina. Este resultado está fuera de todo lo reportado en la literatura y es un problema grave, ya que, este un antibiótico de uso restringido para infecciones graves y para el tratamiento de *C. difficile*, el uso descontrolado de este antimicrobiano puede ser la causa de este aumento en la resistencia. Es necesario seguir realizando estos estudios de vigilancia epidemiológica a nivel local, a nivel país y regional, para tener claro el panorama actual de las resistencias presentes en estos microorganismos. Se debe profundizar en las causas que provocan estos porcentajes de resistencia, promover un uso adecuado de las terapias antimicrobianas, disminuir el consumo de

antibióticos sin prescripción y controlar el uso de antimicrobianos en escenarios como cultivos y producción de carne y leche de origen animal. Se debe promover la creación de programas de optimización del uso de antimicrobianos, crear guías empíricas basándose en epidemiología local y una adecuada gestión de los antimicrobianos.

10. BIBLIOGRAFÍA:

- Alauzet, C., Lozniewski, A., & Marchandin, H. (2019). Metronidazole resistance and nim genes in anaerobes: A review. In *Anaerobe* (Vol. 55, pp. 40–53). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2018.10.004>
- Ali, S., Dennehy, F., Donoghue, O., & McNicholas, S. (2022). Antimicrobial susceptibility patterns of anaerobic bacteria at an Irish University Hospital over a ten-year period (2010–2020). *Anaerobe*, 73. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2021.102497>
- Brett, M. M., Hood, J., Brazier, J. S., Duerden, B. I., & Hahné, S. J. M. (2005). Soft tissue infections caused by spore-forming bacteria in injecting drug users in the United Kingdom. In *Epidemiology and Infection* (Vol. 133, Issue 4, pp. 575–582). <https://doi.org/10.1017/S0950268805003845>
- Brook, I. (2008). Microbiology and management of soft tissue and muscle infections. In *International Journal of Surgery* (Vol. 6, Issue 4, pp. 328–338). <https://doi.org/10.1016/j.ijssu.2007.07.001>
- Brook, I. (2016a). Spectrum and treatment of anaerobic infections. In *Journal of Infection and Chemotherapy* (Vol. 22, Issue 1, pp. 1–13). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.jiac.2015.10.010>
- Brook, I. (2016b). Spectrum and treatment of anaerobic infections. In *Journal of Infection and Chemotherapy* (Vol. 22, Issue 1, pp. 1–13). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.jiac.2015.10.010>
- Brook, I., Wexler, H. M., & Goldstein, E. J. C. (2013). Antianaerobic antimicrobials: Spectrum and susceptibility testing. *Clinical Microbiology Reviews*, 26(3), 526–546. <https://doi.org/10.1128/CMR.00086-12>
- Burnham, J. P., & Kollef, M. H. (2018a). Treatment of severe skin and soft tissue infections: A review. In *Current Opinion in Infectious Diseases* (Vol. 31, Issue 2, pp. 113–119). Lippincott Williams and Wilkins. <https://doi.org/10.1097/QCO.0000000000000431>
- Burnham, J. P., & Kollef, M. H. (2018b). Treatment of severe skin and soft tissue infections: A review. In *Current Opinion in Infectious Diseases* (Vol. 31, Issue 2, pp. 113–119). Lippincott Williams and Wilkins. <https://doi.org/10.1097/QCO.0000000000000431>
- Clinical and Laboratory Standards Institute. (2018). *Methods for Antimicrobial Susceptibility Testing of Anaerobic Bacteria* (9th ed.). www.clsi.org.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. (2024). *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing* (34th ed.).

- Cobo, F. (2022). Antimicrobial Susceptibility and Clinical Findings of Anaerobic Bacteria. In *Antibiotics* (Vol. 11, Issue 3). MDPI. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11030351>
- Corrigan, R. A., Lomas-Cabeza, J., Stubbs, D., & McNally, M. (2020). Clostridium cadaveris Osteomyelitis: An Unusual Pathogen which Highlights the Importance of Deep Tissue Sampling in Chronic Osteomyelitis. *Journal of Bone and Joint Infection*, 5(2), 96–100. <https://doi.org/10.7150/jbji.43801>
- Dubreuil, L., & Odou, M. F. (2010). Anaerobic bacteria and antibiotics: What kind of unexpected resistance could I find in my laboratory tomorrow? In *Anaerobe* (Vol. 16, Issue 6, pp. 555–559). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2010.10.002>
- Eberly, A. R., Elvert, J. L., & Schuetz, A. N. (2022). Best Practices for the Pre-Analytic Phase of Anaerobic Bacteriology. *Clinical Microbiology Newsletter*, 44(7), 63–71. <https://doi.org/10.1016/j.clinmicnews.2022.04.001>
- EUCAST guidance on When there are no breakpoints in breakpoint tables?* (2024).
- Fongg, I. W., Drlica, K., & Shlaess, D. (2018). *Emerging Infectious Diseases of the 21st Century Antimicrobial Resistance in the 21st Century Second Edition*. <http://www.springer.com/series/5903>
- Gajdács, M., Spengler, G., & Urbán, E. (2017). Identification and antimicrobial susceptibility testing of anaerobic bacteria: Rubik's cube of clinical microbiology? In *Antibiotics* (Vol. 6, Issue 4). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/antibiotics6040025>
- Glupczynski, Y., Berhin, C., & Nizet, H. (2009). Antimicrobial susceptibility of anaerobic bacteria in Belgium as determined by E-test methodology. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 28(3), 261–267. <https://doi.org/10.1007/s10096-008-0624-1>
- Hastey, C. J., Boyd, H., Schuetz, A. N., Anderson, K., Citron, D. M., Dzink-Fox, J., Hackel, M., Hecht, D. W., Jacobus, N. V., Jenkins, S. G., Karlsson, M., Knapp, C. C., Koeth, L. M., Wexler, H., & Roe-Carpenter, D. E. (2016). Changes in the antibiotic susceptibility of anaerobic bacteria from 2007–2009 to 2010–2012 based on the CLSI methodology. *Anaerobe*, 42, 27–30. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2016.07.003>
- Hecht, D. W. (2004). Prevalence of Antibiotic Resistance in Anaerobic Bacteria: Worrisome Developments. In *Clinical Infectious Diseases* (Vol. 54). <https://academic.oup.com/cid/article/39/1/92/317427>
- Hyte, M., Patel, D., Venkata, K., Reyes-Sacin, C., & AAHISVS. (2021). Clostridium septicum bacteremia resulting from traumatic myonecrosis: A Case report. *Journal of Medical Case Reports and Case Series*, 1–2. <https://doi.org/10.38207/jmcrs20210101>

- Ibnoulkhatib, A., Lacroix, J., Moine, A., Archambaud, M., Bonnet, E., & Laffosse, J. M. (2012). Post-traumatic bone and/or joint limb infections due to *Clostridium* spp. *Orthopaedics and Traumatology: Surgery and Research*, *98*(6), 696–705. <https://doi.org/10.1016/j.otsr.2012.03.019>
- Jamal, W., Shahin, M., & Rotimi, V. O. (2010). Surveillance and trends of antimicrobial resistance among clinical isolates of anaerobes in Kuwait hospitals from 2002 to 2007. *Anaerobe*, *16*(1), 1–5. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2009.04.004>
- Jenkins, S. G. (n.d.). *Infections due to anaerobic bacteria and the role of antimicrobial susceptibility testing of anaerobes*. <http://journals.lww.com/revmedmicrobiol>
- Koru, O., & Ozyurt, M. (2008). Determination of antimicrobial susceptibilities of clinically isolated anaerobic bacteria by E-test, ATB-ANA and agar dilution. *Anaerobe*, *14*(3), 161–165. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2008.02.004>
- LaPlante, K. L., Leonard, S. N., Andes, D. R., Craig, W. A., & Rybak, M. J. (2008). Activities of clindamycin, daptomycin, doxycycline, linezolid, trimethoprim-sulfamethoxazole, and vancomycin against community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with inducible clindamycin resistance in murine thigh infection and in vitro pharmacodynamic models. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *52*(6), 2156–2162. <https://doi.org/10.1128/AAC.01046-07>
- Lee, Y., Park, Y., Kim, M. S., Yong, D., Jeong, S. H., Lee, K., & Chong, Y. (2010). Antimicrobial susceptibility patterns for recent clinical isolates of anaerobic bacteria in South Korea. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *54*(9), 3993–3997. <https://doi.org/10.1128/AAC.00481-10>
- Letournel-Glomaud, C., Houssaye, S., Milhaiha, L., & Ghnassia, J. C. (2003). E-test antibiotics susceptibility of strict anaerobic bacteria. *Anaerobe*, *9*(6), 281–284. [https://doi.org/10.1016/S1075-9964\(03\)00067-2](https://doi.org/10.1016/S1075-9964(03)00067-2)
- Löfmark, S., Edlund, C., & Nord, C. E. (2010). Metronidazole is still the drug of choice for treatment of anaerobic infections. *Clinical Infectious Diseases*, *50*(SUPP.1). <https://doi.org/10.1086/647939>
- Mallozzi, M., Viswanathan, V. K., & Vedantam, G. (2010). Spore-forming Bacilli and Clostridia in human disease. In *Future Microbiology* (Vol. 5, Issue 7, pp. 1109–1123). Future Medicine Ltd. <https://doi.org/10.2217/fmb.10.60>
- Maraki, S., Mavromanolaki, V. E., Stafylaki, D., & Kasimati, A. (2020). Antimicrobial susceptibility patterns of clinically significant Gram-positive anaerobic bacteria in a Greek tertiary-care hospital, 2017–2019. *Anaerobe*, *64*. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2020.102245>
- Marín, M., Martín, A., Alcalá, L., Cercenado, E., Iglesias, C., Reigadas, E., & Bouzaa, E. (2015). *Clostridium difficile* isolates with high linezolid mics harbor the

- multiresistance gene cfr. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 59(1), 586–589.
<https://doi.org/10.1128/AAC.04082-14>
- Mathur, P. (2008). INFECTIONS IN TRAUMATISED PATIENTS: A GROWING MEDICO-SURGICAL CONCERN. *Indian Journal of Medical Microbiology*, 26(3), 212–216. [https://doi.org/10.1016/s0255-0857\(21\)01864-8](https://doi.org/10.1016/s0255-0857(21)01864-8)
- Nagy, E. (2010). *Anaerobic Infections Update on Treatment Considerations*.
- Nolla, J. M., Murillo, O., Narvaez, J., Vaquero, C. G., Lora-Tamayo, J., Pedrero, S., Cabo, J., & Ariza, J. (2016). Pyogenic arthritis of native joints due to *Bacteroides fragilis*. In *Medicine (United States)* (Vol. 95, Issue 25). Lippincott Williams and Wilkins. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000003962>
- Novak, A., Rubic, Z., Dogas, V., Goic-Barisic, I., Radic, M., & Tonkic, M. (2015). Antimicrobial susceptibility of clinically isolated anaerobic bacteria in a University Hospital Centre Split, Croatia in 2013. *Anaerobe*, 31, 31–36. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2014.10.010>
- Pape, H. C., Moore, E. E., McKinley, T., & Sauaia, A. (2022). Pathophysiology in patients with polytrauma. In *Injury* (Vol. 53, Issue 7, pp. 2400–2412). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.injury.2022.04.009>
- Peetermans, M., de Prost, N., Eckmann, C., Norrby-Teglund, A., Skrede, S., & De Waele, J. J. (2020). Necrotizing skin and soft-tissue infections in the intensive care unit. In *Clinical Microbiology and Infection* (Vol. 26, Issue 1, pp. 8–17). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2019.06.031>
- Pence, M. A. (2019). Antimicrobial Resistance in Clinically Important Anaerobes. *Clinical Microbiology Newsletter*, 41(1), 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.clinmicnews.2018.12.003>
- Phe. (2016). *standards-for-microbiology-investigations-smi-quality-and-consistency-in-clinical-laboratories UK Standards for Microbiology Investigations are produced in association with.*
- Reissier, S., Penven, M., Guérin, F., & Cattoir, V. (2023). Recent Trends in Antimicrobial Resistance among Anaerobic Clinical Isolates. In *Microorganisms* (Vol. 11, Issue 6). MDPI. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11061474>
- Rodham, P., Panteli, M., Vun, J. S. H., Harwood, P., & Giannoudis, P. V. (2023). Lower limb post-traumatic osteomyelitis: a systematic review of clinical outcomes. *European Journal of Orthopaedic Surgery and Traumatology*, 33(5), 1863–1873. <https://doi.org/10.1007/s00590-022-03364-2>
- Sanko, T. J., Mienie, C., Adeleke, R., Fourie, J. C. J., & Bezuidenhout, C. C. (2020). Inside environmental *Clostridium perfringens* genomes: antibiotic resistance genes,

- virulence factors and genomic features. *Journal of Water and Health*, 18(4), 477–493. <https://doi.org/10.2166/WH.2020.029>
- Sárvári, K. P., & Schoblocher, D. (2020). The antibiotic susceptibility pattern of gas gangrene-forming *Clostridium* spp. clinical isolates from South-Eastern Hungary. *Infectious Diseases*, 52(3), 196–201. <https://doi.org/10.1080/23744235.2019.1696472>
- Schaumann, R., Ackermann, G., Pless, B., Claros, M. C., Goldstein, E. J. C., & Rodloff, A. C. (2000). In vitro activities of fourteen antimicrobial agents against obligately anaerobic bacteria. In *International Journal of Antimicrobial Agents* (Vol. 16). www.ischemo.org
- Schuetz, A. N., & Lavrova, Y. (2014). Antimicrobial Resistance and Susceptibility Testing of Anaerobic Bacteria. In *Clinical Infectious Diseases Advance Access*. <http://cid.oxfordjournals.org/http://cid.oxfordjournals.org/>
- Sood, A., Ray, P., & Angrup, A. (2021). Phenotypic and genotypic antimicrobial resistance in clinical anaerobic isolates from India. *JAC-Antimicrobial Resistance*, 3(2). <https://doi.org/10.1093/jacamr/dlab044>
- Stevens, D. L., Aldape, M. J., & Bryant, A. E. (2012). Life-threatening clostridial infections. *Anaerobe*, 18(2), 254–259. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2011.11.001>
- Stevens, D. L., Bisno, A. L., Chambers, H. F., Dale Everett, E., Dellinger, P., Goldstein, E. J. C., Gorbach, S. L., Hirschmann, J. V, Kaplan, E. L., Montoya, J. G., & Wade, J. C. (2005). *Guidelines for Skin and Soft-Tissue Infections • CID 2005:41 (15 November) Practice Guidelines for the Diagnosis and Management of Skin and Soft-Tissue Infections*. <https://academic.oup.com/cid/article/41/10/1373/345303>
- Stevens, D. L., & Bryant, A. E. (2017). Necrotizing Soft-Tissue Infections. *New England Journal of Medicine*, 377(23), 2253–2265. <https://doi.org/10.1056/NEJMra1600673>
- Stogios, P. J., & Savchenko, A. (2020). Molecular mechanisms of vancomycin resistance. In *Protein Science* (Vol. 29, Issue 3, pp. 654–669). Blackwell Publishing Ltd. <https://doi.org/10.1002/pro.3819>
- Tremp, M., Oranges, C. M., Majewski, M., Schaefer, D. J., Kalbermatten, D. F., Bloch-Infanger, C., & Ochsner, P. E. (2020a). Clostridial infection after open fractures of the lower extremity - Report of two cases and discussion of pathomechanism and treatment. *In Vivo*, 34(1), 291–298. <https://doi.org/10.21873/invivo.11773>
- Tremp, M., Oranges, C. M., Majewski, M., Schaefer, D. J., Kalbermatten, D. F., Bloch-Infanger, C., & Ochsner, P. E. (2020b). Clostridial infection after open fractures of the lower extremity - Report of two cases and discussion of pathomechanism and treatment. *In Vivo*, 34(1), 291–298. <https://doi.org/10.21873/invivo.11773>

- Veloo, A., Bahar Tokman, H., Jean-Pierre, H., Dumont, Y., Jeverica, S., Lienhard, R., Novak, A., Rodloff, A., Rotimi, V., Wybo, I., Antimicrobial, al, & Nagy, E. (2019). *Antimicrobial susceptibility profiles of anaerobic bacteria, isolated from human clinical specimens, within different European and surrounding countries. A joint ESGAI study* To cite this version: *Antimicrobial susceptibility of anaerobic bacteria* *Antimicrobial susceptibility profiles of anaerobic bacteria, isolated from human clinical specimens, within different European and surrounding countries. A joint ESGAI study*. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2019.102111i>
- Wybo, I., den Bossche, D. Van, Soetens, O., Vekens, E., Vandoorslaer, K., Claeys, G., Glupczynski, Y., Ieven, M., Melin, P., Nonhoff, C., Rodriguez-Villalobos, H., Verhaegen, J., & Piérard, D. (2014). Fourth Belgian multicentre survey of antibiotic susceptibility of anaerobic bacteria. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, *69*(1), 155–161. <https://doi.org/10.1093/jac/dkt344>
- Yunoki, T., Matsumura, Y., Yamamoto, M., Tanaka, M., Hamano, K., Nakano, S., Noguchi, T., Nagao, M., Ichiyama, S., Fujita, N., Komori, T., Yamada, Y., Shimizu, T., Hayashi, A., Ono, T., Fukuda, O., Watanabe, H., Ichiyama, S., Higuchi, T., ... Tsuboi, F. (2016). Genetic identification and antimicrobial susceptibility of clinically isolated anaerobic bacteria: A prospective multicenter surveillance study in Japan. *Anaerobe*, *48*, 215–223. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2017.09.003>

11. Anexos

Cuadro 5. Resultados de PSA de los aislamientos de *Clostridium* sp

Número	Aislamiento	Clindamicina	Interpretación	Metronidazol	Interpretación
1	<i>Cl. limosum</i>	0,016	S	0,016	S
2	<i>Cl. sordelli</i>	8	R	1	S
3	<i>P. bifementans</i>	0,064	S	0,25	S
4	<i>Cl. perfringens</i>	1	S	2	S
5	<i>Cl. subterminale</i>	0,75	S	0,064	S
6	<i>Cl. perfringens</i>	2	S	0,75	S
7	<i>Cl. glycolicum</i>	0,094	S	0,5	S
8	<i>Cl. limosum</i>	0,016	S	0,016	S
9	<i>P. bifementans</i>	0,38	S	0,5	S
10	<i>P. bifementans</i>	0,25	S	0,05	S
11	<i>Cl. histolyticum</i>	0,032	S	0,094	S
12	<i>Cl. sordelli</i>	2	S	4	S
13	<i>Cl. sphenoides</i>	1	S	0,19	S
14	<i>Cl. celerecrescens</i>	2	S	0,19	S
15	<i>Cl. histolyticum</i>	0,016	S	0,125	S
16	<i>Cl. indolis</i>	1,5	S	0,047	S
17	<i>Cl. ramosum</i>	4	I	0,094	S
18	<i>Cl. sporogenes</i>	16	R	1	S
19	<i>P. bifementans</i>	0,5	S	0,19	S
20	<i>Cl. celerecrescens</i>	16	R	0,125	S
21	<i>Cl. sphenoides</i>	4	I	0,094	S
22	<i>Cl. sporogenes</i>	16	R	0,5	S
23	<i>Cl. ramosum</i>	3	I	0,38	S
24	<i>Cl. perfringens</i>	0,19	S	0,75	S
25	<i>Cl. butyricum</i>	0,75	S	0,19	S
26	<i>Cl. perfringens</i>	0,5	S	0,38	S
27	<i>Cl. perfringens</i>	2	S	1	S
28	<i>Cl. perfringens</i>	0,75	S	1,5	S
29	<i>Cl. sordelli</i>	8	R	2	S
30	<i>Cl. tertium</i>	12	R	0,125	S
31	<i>Cl. aerotolerans</i>	1,5	S	0,094	S
32	<i>Cl. indolis</i>	8	R	0,094	S
33	<i>Cl. perfringens</i>	1,5	S	0,75	S
34	<i>Cl. perfringens</i>	0,75	S	0,38	S
35	<i>Cl. perfringens</i>	2	S	0,75	S
36	<i>Cl. indolis</i>	2	S	0,064	S
37	<i>Cl. aerotolerans</i>	4	I	0,25	S
38	<i>Cl. perfringens</i> (Creció en CO2)	2	S	1	S
39	<i>Cl. perfringens</i>	2	S	1	S
40	<i>Cl. perfringens</i>	2	S	0,5	S
41	<i>Cl. perfringens</i>	>256	R	2	S
42	<i>Cl. sordelli</i>	3	I	1,5	S
43	<i>Cl. perfringens</i>	0,125	S	1,5	S
44	<i>Cl. perfringens</i> (Creció en CO2)	1,5	S	1,5	S
45	<i>Cl. tertium</i>	4	I	0,75	S
46	<i>Cl. perfringens</i>	6	I	0,5	S
47	<i>Cl. perfringens</i>	1,5	S	1,5	S
48	<i>Cl. perfringens</i>	>256	R	0,75	S
49	<i>Cl. perfringens</i>	0,125	S	1,5	S
50	<i>Cl. perfringens</i>	0,75	S	0,75	S
51	<i>Cl. perfringens</i>	0,75	S	0,5	S
52	<i>Cl. perfringens</i>	2	S	1	S

Número	Aislamiento	Vancomicina	Interpretación	Doxiciclina	Interpretación
1	<i>Cl. limosum</i>	8	R	3	NA
2	<i>Cl. sordelli</i>	3	R	8	NA
3	<i>P. bifementans</i>	1,5	S	2	NA
4	<i>Cl. perfringens</i>	2	S	1,5	NA
5	<i>Cl. subterminale</i>	3	R	1	NA
6	<i>Cl. perfringens</i>	2	S	3	NA
7	<i>Cl. glycolicum</i>	1,5	S	0,5	NA
8	<i>Cl. limosum</i>	6	R	0,38	NA
9	<i>P. bifementans</i>	2	S	0,047	NA
10	<i>P. bifementans</i>	2	S	0,023	NA
11	<i>Cl. histolyticum</i>	4	R	0,047	NA
12	<i>Cl. sordelli</i>	4	R	4	NA
13	<i>Cl. sphenoides</i>	3	R	0,016	NA
14	<i>Cl. celerecrescens</i>	4	R	0,5	NA
15	<i>Cl. histolyticum</i>	4	R	0,016	NA
16	<i>Cl. indolis</i>	16	R	0,016	NA
17	<i>Cl. ramosum</i>	24	R	0,032	NA
18	<i>Cl. sporogenes</i>	4	R	0,047	NA
19	<i>P. bifementans</i>	2	S	0,016	NA
20	<i>Cl. celerecrescens</i>	4	R	0,023	NA
21	<i>Cl. sphenoides</i>	4	R	0,032	NA
22	<i>Cl. sporogenes</i>	24	R	0,032	NA
23	<i>Cl. ramosum</i>	16	R	0,064	NA
24	<i>Cl. perfringens</i>	2	S	0,25	NA
25	<i>Cl. butyricum</i>	3	R	0,75	NA
26	<i>Cl. perfringens</i>	3	R	8	NA
27	<i>Cl. perfringens</i>	2	S	3	NA
28	<i>Cl. perfringens</i>	3	R	2	NA
29	<i>Cl. sordelli</i>	3	R	3	NA
30	<i>Cl. tertium</i>	3	R	0,25	NA
31	<i>Cl. aerotolerans</i>	3	R	0,023	NA
32	<i>Cl. indolis</i>	3	R	0,032	NA
33	<i>Cl. perfringens</i>	2	S	1,5	NA
34	<i>Cl. perfringens</i>	1,5	S	0,25	NA
35	<i>Cl. perfringens</i>	1	S	2	NA
36	<i>Cl. indolis</i>	8	R	0,023	NA
37	<i>Cl. aerotolerans</i>	4	R	2	NA
38	<i>Cl. perfringens</i> (Creció en CO2)	2	S	1	NA
39	<i>Cl. perfringens</i>	2	S	0,75	NA
40	<i>Cl. perfringens</i>	1,5	S	1,5	NA
41	<i>Cl. perfringens</i>	2	S	2	NA
42	<i>Cl. sordelli</i>	3	R	0,094	NA
43	<i>Cl. perfringens</i>	1	S	0,19	NA
44	<i>Cl. perfringens</i> (Creció en CO2)	2	S	0,75	NA
45	<i>Cl. tertium</i>	4	R	2	NA
46	<i>Cl. perfringens</i>	2	S	12	NA
47	<i>Cl. perfringens</i>	2	S	4	NA
48	<i>Cl. perfringens</i>	2	S	1,5	NA
49	<i>Cl. perfringens</i>	3	R	3	NA
50	<i>Cl. perfringens</i>	2	S	1	NA
51	<i>Cl. perfringens</i>	3	R	0,03	NA
52	<i>Cl. perfringens</i>	2	S	4	NA

Número	Aislamiento	Linezolid	Interpretación	Amoxicilina/Clavulánico	Interpretación
1	<i>Cl. limosum</i>	0,75	NA	0,19	S
2	<i>Cl. sordelli</i>	2	NA	0,016	S
3	<i>P. bifementans</i>	0,38	NA	0,016	S
4	<i>Cl. perfringens</i>	1,5	NA	0,032	S
5	<i>Cl. subterminale</i>	4	NA	0,125	S
6	<i>Cl. perfringens</i>	1	NA	0,023	S
7	<i>Cl. glycolicum</i>	0,032	NA	0,19	S
8	<i>Cl. limosum</i>	0,5	NA	0,19	S
9	<i>P. bifementans</i>	0,5	NA	0,032	S
10	<i>P. bifementans</i>	1	NA	0,016	S
11	<i>Cl. histolyticum</i>	2	NA	0,064	S
12	<i>Cl. sordelli</i>	1	NA	0,016	S
13	<i>Cl. sphenoides</i>	4	NA	0,75	S
14	<i>Cl. celerecrescens</i>	6	NA	1,5	S
15	<i>Cl. histolyticum</i>	2	NA	0,094	S
16	<i>Cl. indolis</i>	1	NA	1	S
17	<i>Cl. ramosum</i>	2	NA	0,023	S
18	<i>Cl. sporogenes</i>	4	NA	0,25	S
19	<i>P. bifementans</i>	1	NA	0,016	S
20	<i>Cl. celerecrescens</i>	4	NA	0,75	S
21	<i>Cl. sphenoides</i>	6	NA	0,38	S
22	<i>Cl. sporogenes</i>	2	NA	0,25	S
23	<i>Cl. ramosum</i>	2	NA	0,064	S
24	<i>Cl. perfringens</i>	1,5	NA	0,032	S
25	<i>Cl. butyricum</i>	0,5	NA	0,25	S
26	<i>Cl. perfringens</i>	1,5	NA	0,047	S
27	<i>Cl. perfringens</i>	1	NA	0,064	S
28	<i>Cl. perfringens</i>	1	NA	0,047	S
29	<i>Cl. sordelli</i>	2	NA	0,023	S
30	<i>Cl. tertium</i>	1,5	NA	0,125	S
31	<i>Cl. aerotolerans</i>	1	NA	0,75	S
32	<i>Cl. indolis</i>	1	NA	0,38	S
33	<i>Cl. perfringens</i>	1	NA	0,023	S
34	<i>Cl. perfringens</i>	0,75	NA	0,016	S
35	<i>Cl. perfringens</i>	1	NA	0,016	S
36	<i>Cl. indolis</i>	0,5	NA	1	S
37	<i>Cl. aerotolerans</i>	1,5	NA	0,75	S
38	<i>Cl. perfringens</i> (Creció en CO2)	1,5	NA	0,32	S
39	<i>Cl. perfringens</i>	1	NA	0,094	S
40	<i>Cl. perfringens</i>	1	NA	0,032	S
41	<i>Cl. perfringens</i>	1,5	NA	0,03	S
42	<i>Cl. sordelli</i>	1,5	NA	0,32	S
43	<i>Cl. perfringens</i>	1,5	NA	0,023	S
44	<i>Cl. perfringens</i> (Creció en CO2)	1	NA	0,05	S
45	<i>Cl. tertium</i>	1,5	NA	0,5	S
46	<i>Cl. perfringens</i>	1,5	NA	0,64	S
47	<i>Cl. perfringens</i>	1,5	NA	0,032	S
48	<i>Cl. perfringens</i>	1	NA	0,032	S
49	<i>Cl. perfringens</i>	1	NA	0,047	S
50	<i>Cl. perfringens</i>	1	NA	0,023	S
51	<i>Cl. perfringens</i>	0,75	NA	0,025	S
52	<i>Cl. perfringens</i>	1,5		0,06	S