

***Clostridium perfringens*: INFECCIONES DE PIEL Y TEJIDOS BLANDOS**

Consuelo Miranda y María Dolores Rojo

Servicio de Microbiología. Hospital Universitario Virgen de las Nieves. Granada

El género *Clostridium* está formado por un grupo heterogéneo de bacilos grampositivos anaerobios esporulados. Está ampliamente distribuido en la naturaleza, principalmente en el suelo y en el tracto intestinal de muchas especies animales incluido el hombre, y puede causar infecciones de origen exógeno y de origen endógeno. En la actualidad se han descrito más de 150 especies, aunque sólo alrededor de 30 han sido asociadas con infección humana, siendo *Clostridium perfringens* la especie más frecuente.

Muchas especies del género *Clostridium* tienen capacidad de producir potentes exotoxinas que son las responsables de ocasionar graves cuadros tóxicos. *Clostridium perfringens* puede elaborar una gran variedad de ellas (11 histotoxinas y 1 enterotoxina) y, dependiendo de la producción de las cuatro toxinas principales, la especie se divide en cinco tipos (tabla 1).

Tabla 1. Tipos toxigénicos de *C. perfringens*.

	Toxina			
	alfa	beta	epsilon	lota
<i>C. perfringens</i> tipo A	+	–	–	–
<i>C. perfringens</i> tipo B	+	+	+	–
<i>C. perfringens</i> tipo C	+	+	–	–
<i>C. perfringens</i> tipo D	+	–	+	–
<i>C. perfringens</i> tipo E	+	–	–	+

La alfa-toxina (fosfolipasa C, lecitinasa) juega un papel primordial en la patogenia de la gangrena gaseosa, la beta-toxina de *C. perfringens* tipo C está implicada en la enteritis necrótica y la enterotoxina de *C. perfringens* tipo A en las intoxicaciones alimentarias. Estos cuadros tóxicos, en general bien caracterizados, son principalmente infecciones exógenas. Actualmente y en nuestro medio, son mucho más frecuentes las infecciones por especies del género *Clostridium* de origen endógeno, generalmente menos específicas, en las cuales la acción patógena no suele ser debida a las toxinas sino a otros factores de virulencia. Pueden afectar a cualquier órgano o sistema, pero sobre todo a aquellos cercanos a las superficies mucosas, donde son parte abundante de la biota comensal. Asimismo, se trata frecuentemente de infecciones mixtas en donde estos microorganismos se encuentran junto a otras bacterias anaerobias o facultativas. Su gravedad es, en general, la misma que la de otras infecciones polimicrobianas, pero puede variar dependiendo de una serie de factores, desde cuadros en donde su presencia es de dudosa significación a gravísimos cuadros de mionecrosis y de bacteriemias con *shock*.

Lo mismo que sucede en otros cuadros infecciosos producidos por anaerobios, el desarrollo de la infección por *Clostridium* está asociado con determinados factores del huésped, como la rotura de las barreras cutáneo-mucosas por cirugía o traumatismo, presencia de enfermedades graves, como diabetes o cáncer, insuficiencia vascular y tratamiento con inmunosupresores o múltiples antibióticos. Son situaciones en las que el riego sanguíneo se ve comprometido, creándose un ambiente ideal para la proliferación de

estos microorganismos que, en condiciones adecuadas de anaerobiosis e hipoxia, pueden invadir y multiplicarse en cualquier tejido del cuerpo humano.

INFECCIONES CLOSTRIDIALES TÍPICAS DE PIEL Y TEJIDOS BLANDOS

Diversas infecciones de piel y tejidos blandos están asociadas con especies de *Clostridium*. Las más características y graves son la celulitis por *Clostridium* o celulitis crepitante y la mionecrosis por *Clostridium* o gangrena gaseosa. Estas dos entidades pueden diferenciarse por algunas características clínicas y microbiológicas.

Celulitis crepitante

Se trata de una infección que afecta, característicamente, a los tejidos subcutáneos o retroperitoneales; el músculo no está envuelto en una extensión significativa y permanece viable. Los hallazgos en el lugar de la infección incluyen crepitación a la palpación por la presencia de gas, a menudo más abundante que en la mionecrosis, dolor mínimo, edema, ligera decoloración de la piel y exudado oscuro, frecuentemente maloliente, que en la tinción de Gram suele mostrar células bacterianas típicas y abundantes neutrófilos. Generalmente, aparece después de un traumatismo, con un periodo de incubación de 3 días o más y con mínima toxicidad, aunque raramente puede evolucionar a un cuadro sistémico y fulminante, con toxemia y extensión rápida a los planos faciales. El diagnóstico correcto, junto al tratamiento precoz, son fundamentales en la evolución de la infección, donde *C. perfringens* es la causa más común y puede encontrarse en cultivos polimicrobianos.

Gangrena gaseosa

Esta infección surge principalmente después de un traumatismo, bien como en el caso clínico del presente control (B-2/04), como complicación de una herida penetrante y extensa, usualmente en una extremidad y con gran afectación de la masa muscular, o bien como complicación de una cirugía, principalmente de colon o tracto biliar, o después de un aborto séptico, parto u otra manipulación obstétrica. El traumatismo introduce al microorganismo, en su forma vegetativa o sus esporas, en los tejidos profundos y produce un ambiente anaerobio que favorece el crecimiento de éste y la producción de sus toxinas. La presencia de una enfermedad de base, como la diabetes, en el paciente al que aludía el presente control era un factor favorecedor de la infección.

La gangrena gaseosa se presenta con un curso rápidamente progresivo y devastador, caracterizado por una necrosis muscular y una grave toxicidad sistémica, con taquicardia, fiebre de bajo grado y una extrema ansiedad. El periodo de incubación, contado desde que se produce el traumatismo hasta la aparición de los síntomas suele ser de 1 a 4 días (6 h a 3 semanas). Generalmente, el comienzo es brusco, con un fuerte dolor en el lugar del trauma que, al principio, puede presentarse sin otros síntomas locales. La enfermedad progresa rápidamente y, en minutos u horas, se puede observar alrededor de la herida una piel edematosa y con una palidez marmórea que puede ir cambiando a color bronce, seguido por la aparición de bullas hemorrágicas y enfisema subcutáneo. Puede producirse un espeso exudado marrón, serosanguinolento, con un característico olor dulzón distinto del olor pútrido de otras infecciones anaeróbicas. Se suele observar gas por palpación, radiografía o escáner, aunque la crepitación puede ser un signo tardío.

El diagnóstico temprano de la gangrena gaseosa es crítico, y se basa en los hallazgos clínicos, quirúrgicos y microbiológicos. Desde el punto de vista microbiológico, es muy importante el examen e informe urgente de la tinción de Gram de las muestras, en donde típicamente se observan numerosos bacilos grampositivos y escasos o ausentes

neutrófilos, parece ser que debido a la acción de las toxinas leucolíticas del microorganismo. Del 10 al 15 % de pacientes con gangrena gaseosa tienen bacteriemia documentada.

Clostridium perfringens es el responsable del 80% de los casos de gangrena gaseosa postraumática. En la tinción de Gram aparece como un bacilo grampositivo grande, relativamente corto y grueso, con forma de ladrillo o furgón de carga (Figura 1). Generalmente no se observan esporas y cuando se ven son redondas y subterminales. Es uno de los anaerobios más fáciles de recuperar en cultivo. Puede formar colonias en 18-24 h que, en agar sangre, producen un típico halo de doble hemólisis, una interna de hemólisis completa (β -hemólisis) debida a la toxina *theta* y otra externa, más grande, de hemólisis incompleta (α -hemólisis) debida a la toxina *alfa*. En menor proporción se han aislado otras especies como *C. novyi*, *C. histolyticum*, *C. sordelli*, *C. fallax*, *C. bifermentans*, *C. sporogenes* o *C. tertium* en casos de gangrena gaseosa.

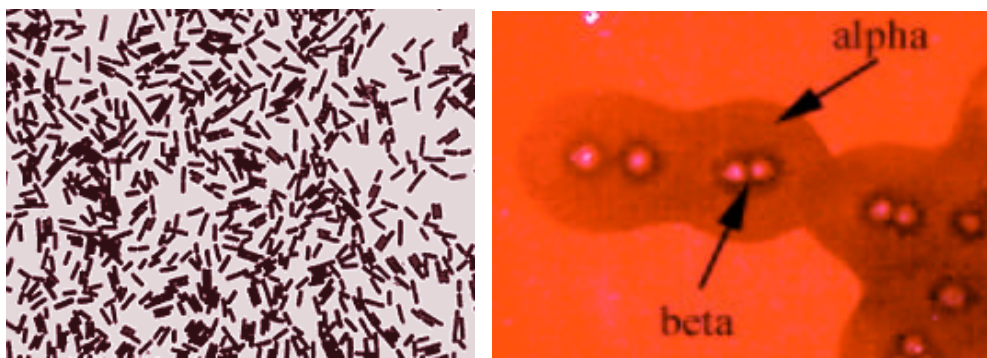


Figura 1. Morfología de *C. perfringens* en la tinción de Gram y doble hemólisis típica en agar sangre.

Existe otra forma de esta infección que se produce de forma espontánea, en la que no hay una puerta de entrada externa y obvia de la infección. En la mayoría de los casos está producida por *C. septicum* y la fuente, presumiblemente, es el colon. Los factores predisponentes para este tipo de gangrena incluyen: el carcinoma de colon, la diverticulitis, la cirugía gastrointestinal, la leucemia u otras enfermedades proliferativas, la quimioterapia o radioterapia y la neutropenia cíclica, en donde también es frecuente encontrar enterocolitis *necrosante*, cecitis o ileítis distal. La patología intestinal asociada a este tipo de gangrena es la que permite el acceso de la bacteria a la sangre y, de aquí, a los tejidos sanos. En la gangrena gaseosa espontánea, la bacteriemia se asocia a síntomas que recuerdan una apendicitis y suele preceder en varias horas a los síntomas locales, lo que puede ser causa de retraso en el diagnóstico y, consecuentemente, de una mayor mortalidad. Los pacientes que sobreviven a una bacteriemia o gangrena gaseosa por *C. septicum* deben ser sometidos a un estudio del tracto gastrointestinal para excluir cualquier patología de base, principalmente el carcinoma de colon. Han ocurrido casos de gangrena gaseosa asociados con insuficiencia vascular, úlceras de pie diabético, úlceras de decúbito, quemaduras, amputaciones e inyecciones intramusculares o subcutáneas de epinefrina o heroína. También se ha descrito, en raras ocasiones, casos de gangrena recurrente en pacientes con un traumatismo no penetrante, en el lugar anatómico donde previamente ya habían sufrido una mionecrosis. Al parecer podrían ser debidos al crecimiento de *C. perfringens*, favorecido por el ambiente anaerobio creado tras el traumatismo, a partir de esporas, que pueden quedar en el tejido por períodos de hasta más de 20 años.

El tratamiento de las gangrenas gaseosas es muy urgente y se basa en medidas quirúrgicas con desbridamiento y extirpación de todos los tejidos afectados y la administración de antibióticos activos a altas dosis.

OTRAS INFECCIONES (INESPECÍFICAS) POR *Clostridium*

Afortunadamente, en la actualidad, la gangrena gaseosa es una complicación rara teniendo en cuenta que alrededor del 20 al 80% de las heridas pueden estar contaminadas con diversas especies de *Clostridium*. El aislamiento más usual de estas bacterias en el laboratorio de microbiología se produce a partir de infecciones comunes de piel y tejidos blandos, bacteriemia u otras infecciones supuradas, algunas de las cuales por su frecuencia merece la pena destacar:

- **Infecciones comunes de piel y tejidos blandos:** infecciones de heridas postquirúrgicas, celulitis perirectal, abscesos perirectales, úlceras de pié diabético, úlceras de decúbito, infecciones asociadas con insuficiencia vascular o infecciones de muñón. Son clínicamente similares a las producidas por otras bacterias y frecuentemente polimicrobianas, en donde a veces la significación de *Clostridium* es incierta.
- **Bacteriemia:** la bacteriemia por especies de *Clostridium* supone menos del 3% de todas las bacteriemias y se produce principalmente en pacientes con carcinoma intestinal, leucemia y sida. *Clostridium perfringens* es la especie más aislada y aunque en ocasiones su aislamiento reviste particular gravedad con cuadros de hemólisis intravascular y *shock*, en la mayoría de los casos su significado clínico es dudoso representando contaminación o bacteriemias transitorias. Le sigue en frecuencia *C. septicum* asociado en un 70-80% con recaída de leucemias y carcinoma de colon y que, al contrario de lo que sucede con la bacteriemia por *C. perfringens*, suele tener gran importancia clínica y puede presentar una evolución fulminante. Su aislamiento obliga a la realización de pruebas para descartar patología intestinal, principalmente carcinoma. Con menor frecuencia se ha aislado *C. tertium* como causa de bacteriemia en enterocolitis neutropénica.
- **Infecciones intrabdominales:** peritonitis secundarias, abscesos intrabdominales o infecciones de heridas abdominales postquirúrgicas por *C. perfringens*. Se describen comúnmente en infecciones endógenas junto a otros microorganismos de la biota intestinal.
- **Infecciones biliares:** la colecistitis por *Clostridium* es similar a la producida por otras bacterias salvo por dos circunstancias: a) en la bilis son la posible fuente de la gangrena gaseosa de la pared abdominal, que es una rara pero catastrófica complicación de la cirugía biliar, y b) la colecistitis enfisematosa, producida principalmente por *C. perfringens*, que requiere una rápida intervención quirúrgica y tratamiento antimicrobiano. Se produce más frecuentemente en pacientes diabéticos y en varones y se debe sospechar cuando en la radiografía o TAC del tracto biliar se observa gas.
- **Infecciones del tracto genital femenino:** las bacterias del género *Clostridium* se pueden aislar también de infecciones genitales, principalmente abscesos tubo-ováricos o pélvicos. En un 5-10% de las mujeres se presentan en la microbiota vaginal normal, lo que hace difícil muchas veces establecer su significación. Una clara excepción en donde *Clostridium* representa un claro papel patógeno es la gangrena gaseosa uterina, actualmente una infección rara, que en épocas pasadas se presentaba como complicación después de un aborto séptico y, menos frecuentemente, en el postparto o después de otras cirugías o técnicas obstétricas. *Clostridium sordelli* ha sido descrito como productor de endometritis postparto con hipotensión y *shock* tóxico.

CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS DEL GÉNERO *Clostridium*

Generalmente, las células vegetativas tienen forma de bacilos, pudiendo variar desde bacilos cocoides cortos a largos bacilos filamentosos. Pueden aparecer sueltos, en parejas o en cadenas. La mayoría de las especies suelen teñirse como grampositivas, pero hay excepciones como *C. clostridioforme* y *C. ramosum* que suelen ser gramnegativos incluso en cultivos jóvenes de 24 h. *Clostridium tetani* puede aparecer como gramnegativo después de la formación de esporas. Las esporas pueden tener forma oval o esférica y aparecer en situación terminal o subterminal. La demostración de esporas, es difícil en algunas especies como *C. perfringens*, *C. ramosum* y *C. clostridioforme*.

La mayoría de las especies son móviles por medio de flagelos peritricos; *C. perfringens*, *C. ramosum* y *C. innocuum* son inmóviles. Raramente producen catalasa pero cuando lo hacen, la reacción es débilmente positiva. La mayoría son anaerobios obligados moderados, con excepciones como *C. haemolyticum* y *C. novyi tipo B*, que son anaerobios obligados estrictos (no crecen cuando se exponen a niveles de oxígeno mayores al 0,5%) o *C. tertium*, *C. carnis*, *C. histolyticum* y alguna cepa de *C. perfringens*, que son aerotolerantes.

Algunas especies son sacarolíticas (fermentación de la glucosa), otras proteolíticas (hidrólisis de la gelatina) y otras pueden tener ambas características. Algunas especies producen lecitinasa o lipasa que pueden demostrarse en agar yema de huevo. La lecitinasa (alfa-toxina, fosolipasa C) produce un halo opaco alrededor de la colonia por lisis de la lecitina y la lipasa transforma las grasas en glicerol y ácidos grasos, dando una capa iridiscente que cubre la superficie de la colonia.

DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO DE INFECCIONES DE PIEL Y TEJIDOS BLANDOS POR *Clostridium*

Selección, recolección y transporte adecuado de muestras clínicas

Se seguirán las precauciones debidas para la toma de muestras que puedan contener bacterias anaerobias.

- En infecciones de tejidos o abscesos con superficie intacta, la toma se efectuará por punción percutánea y aspiración, procurando que no penetre aire, previo lavado y desinfección.
- En focos o heridas abiertas, debe limpiarse el orificio del drenaje con solución salina estéril y tomar la muestra de la parte más profunda por aspiración.
- En la gangrena gaseosa son buenas muestras las procedentes del desbridamiento quirúrgico de las lesiones, así como las obtenidas por aspiración de las burbujas o ampollas que se forman en la piel.
- Generalmente, las muestras en escobillón no son adecuadas y únicamente se utilizarán ante la imposibilidad de obtener la muestra de las formas anteriormente indicadas.
- El material obtenido debe enviarse en tubo estéril o vial de transporte de anaerobios lo antes posible al laboratorio para su procesamiento.

Medios de cultivo e incubación

Para la recuperación de bacterias del género *Clostridium* a partir de muestras clínicas, se pueden utilizar los siguientes medios: agar sangre para anaerobios, como agar Brucella, agar sangre PEA, agar Schaedler, agar sangre para anaerobios CDC, etc. Es conveniente incluir un medio con yema de huevo para investigar la producción de lipasa y

lecitinasa y un medio líquido de enriquecimiento, como el tioglicolato. La incubación se hará a 35-37°C en anaerobiosis (cámaras, jarras o bolsas con generadores de atmósfera anaerobia).

Identificación de especies de *Clostridium*

El examen de la típica morfología tanto microscópica como de la colonia permite una identificación presuntiva y rápida de algunas especies de *Clostridium* frecuentemente aisladas (tabla 2). Además, junto con la utilización de pruebas bioquímicas sencillas como el estudio de la producción de lecitinasa y lipasa en agar yema de huevo, la hidrólisis de la gelatina y de la urea y la producción de indol por el método rápido (p-dimetil-amino-cinnamaldehído), constituyen un método fácil y poco costoso para la identificación, incluso definitiva, de algunas de ellas [tablas 3 y 4 (al final del documento)].

Tabla 2. Características morfológicas de algunas especies del género *Clostridium*^a.

	Tinción de Gram ^b	Colonia
<i>Clostridium baratii</i>	Bacilo grande. Esporas (ST), RV. No móvil	No hemolítica
<i>C. bifermentans</i>	Bacilo grande. Esporas ovales (ST) a veces en cadenas. Móvil	Gris, borde irregulares, hemólisis pequeña. Lecitina (+)
<i>C. botulinum</i>	Bacilo grande. Esporas (ST). Móvil	
<i>C. butyricum</i>	Extremos redondeados. Grandes esporas ovales (ST). Móvil	
<i>C. cadaveris</i>	Esporas ovales (T)	
<i>C. clostridioforme</i>	Gramnegativo. Alargado con extremos en forma de huso y apariencia de barril. Esporas RV	Pequeñas, convexas, translúcidas con la superficie moteada o de mosaico
<i>C. difficile</i>	Bacilo relativamente largo, delgado. Esporas ovales (T). Móvil	Colonias translúcidas ligeramente elevadas y con moteado cristalino. Olor a establo o estiércol. En medio CCFA amarillentas. Fluorescencia anaranjada bajo luz ultravioleta.
<i>C. histolyticum</i>	Pleomórfico. Esporas ovales (ST). Móvil	Lisas y rugosas. Aerotolerante
<i>C. innocuum</i>	Pequeño. Esporas (ST). No móvil	Blanca, brillante. Fluorescencia anaranjada.
<i>C. novyi</i>	Mediano. Esporas ovales (ST). Móvil	Gris, translúcida. Puede dar velo. Doble halo de hemólisis.
<i>C. perfringens</i>	Ancho y corto. Apariencia de ladrillo. Esporas RV. No móvil	Grande, opaca, tiende a extenderse, sin velo. Doble halo de hemólisis.
<i>C. ramosum</i>	Frecuentemente gramnegativo. Delgado y pleomórfico, en cadenas. Esporas redondas u ovales (T) y RV. No móvil	Fluorescencia roja
<i>C. septicum</i>	Largos y delgados, pleomórfico y filamentoso. Puede formar cadenas. Esporas ovales (ST). Móvil	Cabeza de medusa con bordes irregulares y rizoides. Produce velo que llega a cubrir la placa
<i>C. sporogenes</i>	Filamentoso en cultivos viejos. Esporas ovales (ST). Móvil	Borde rizoide. Adherencia firme al agar. Produce velo
<i>C. sordelli</i>	Rectos. Esporas centrales o (ST) causan ligera hinchazón de los bacilos y frecuentemente libres. Móvil	Velo o extensión
<i>C. tertium</i>	Esporas grandes ovales (T). Móvil	Pequeña, brillante. Aerotolerante
<i>C. tetani</i>	Delgado. Esporas redondas (T). Apariencia de palillo de tambor. Móvil	Gris, translúcida. Borde irregular. Pequeño halo de hemólisis.

^aTomado de Isenberg HD.

^bAbreviaturas: (T): terminales; (ST): subterminales; RV: raramente vistas.

Tabla 3. Algoritmo para la identificación de especies de *Clostridium*^a.

Lecitinasasa	+	Lipasa	+	<i>C. novyi</i>				
			-	Indol	+	Urea	+	<i>C. sordelli</i>
					-		-	<i>C. bifermentans</i>
			-	Gelatina	+	Doble hemólisis	+	<i>C. perfringens</i>
	-				-	<i>C. baratii</i>		
	-	Lipasa	+	<i>C. sporogenes</i>				
-		-	Género <i>Clostridium</i>^b					

^aTomado de Isenberg HD.

^bSi se desea la identificación de especie es necesario utilizar una batería de pruebas más amplia, sistemas comerciales o cromatografía, junto con las características de la tinción de Gram y de las colonias.

Por las características particulares de algunas especies, se pueden presentar ciertos problemas en el proceso de identificación que pueden ser fácilmente resueltos:

- Las especies que se tiñen gramnegativas pueden identificarse como grampositivas por la resistencia a un disco de colistina de 10 µg y la sensibilidad a uno de vancomicina de 5 µg.
- Las especies aerotolerantes se pueden diferenciar de miembros del género *Bacillus* porque *Clostridium* crece mucho mejor en anaerobiosis, es catalasa negativo (o muy débilmente positiva) y esporula sólo en condiciones anaerobias, mientras que *Bacillus* crece mejor en aerobiosis, es catalasa positivo y generalmente no esporula en anaerobiosis.
- Las esporas de algunas especies son difíciles de observar y puede ser necesaria una técnica de selección de esporas, bien por tratamiento con calor a 70-80°C o con etanol. Cuando son visibles, es suficiente la tinción de Gram, las tinciones especiales para esporas no suelen ofrecer ventajas adicionales.
- Las colonias pueden presentar un aspecto pleomórfico dando la impresión de un cultivo mixto. Debe hacerse un subcultivo de una simple colonia para comprobar el mismo pleomorfismo.

Para la identificación definitiva, los métodos utilizados tradicionalmente para anaerobios, como la determinación de sus características fermentativas y bioquímicas con los medios líquidos prerreducidos (PRAS) y la determinación de los productos metabólicos por cromatografía líquido-gaseosa o el análisis de los ácidos grasos de la pared han proporcionado en general buenos resultados. Sin embargo, estas técnicas están sólo disponibles en algunos laboratorios.

En los últimos años, el interés por la utilización de métodos asequibles a todos los tipos de laboratorios clínicos ha dado lugar a la aparición de sistemas comerciales para la identificación rápida de anaerobios. Unos están basados en pruebas bioquímicas (API 20 A o Minitex) y consiguen los resultados en 24-48 h. Otros como Anaerobe ANI Card, Rapid ID 32 A, Rapid Anaerobe ID, Crystal Anaerobe ID o RapID-ANA están basados en la detección de enzimas preformadas a partir de sustratos cromogénicos y la lectura se realiza a las 4 h. El porcentaje de identificación correcta que se obtiene con ellos oscila entre 60-80%. Casi el 100% de las cepas de *C. perfringens* son identificadas correctamente mientras que los mayores fallos se producen con cepas de *C. innocuum*, *C. difficile*, *C. sporogenes*, *C. tetani* y *C. clostridioforme*.

SENSIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS

Los antibióticos activos frente a bacterias anaerobias, son activos frente a la mayoría de cepas de *Clostridium*, pero existen algunas excepciones.

- *Clostridium ramosum*, *C. butyricum* y *C. clostridioforme*, pueden producir β -lactamasas inducibles por antibióticos β -lactámicos. La presencia de estas enzimas se puede investigar por el método de la cefalosporina cromogénica, utilizando como sustrato nitrocefina (Cefinase®, Becton-Dickinson). Aunque se ha detectado un aumento de la resistencia a la penicilina en *C. perfringens*, no se ha demostrado la producción de β -lactamasas en esta especie, lo cual podría reflejar otros mecanismos como la disminución en la afinidad por las proteínas fijadora de penicilina (PBP).
- La resistencia a la clindamicina se ha documentado en cepas de *C. perfringens*, *C. ramosum*, *C. difficile*, *C. tertium*, *C. subterminale*, *C. butyricum*, *C. sporogenes* y *C. innocuum*. En el año 1991 Alados *et al.* encontraron un 9% de resistencia a este antibiótico en las cepas de *C. perfringens* aisladas en el Hospital Virgen de las Nieves de Granada.
- *Clostridium tertium* es resistente a los β -lactámicos, clindamicina y metronidazol y la mayoría de las cepas de *C. innocuum* son sólo moderadamente sensibles a la vancomicina.

Las realización de pruebas de sensibilidad *in vitro* a los antimicrobianos en estas bacterias están indicadas en pacientes con enfermedad grave, que requieren tratamientos prolongados, que no responden al tratamiento empírico, en especies generalmente asociadas a resistencias y como vigilancia de los patrones de resistencia de la comunidad y hospitalaria.

La dilución en agar es el método de referencia del NCCLS, pero para las pruebas habituales en los laboratorios clínicos los paneles comerciales de microdilución en caldo (Sensititre o ATB ANA) y el E-test® son unas buenas opciones, presentando además, una buena correlación con dicho método de referencia. Con el E-test®, el metronidazol puede dar falsas resistencias, problema que parece eliminarse si la placa es pre-reducida en atmósfera anaerobia durante 18-24 h antes de la prueba. Por el contrario, la clindamicina puede dar falsos sensibles, recomendándose para este antibiótico un periodo de incubación de 48 h que permita detectar la expresión retrasada de la resistencia inducible.

BIBLIOGRAFÍA

- ALADOS JC, MARTINEZ- BROCAL A, MRANDA C *et al.* Estudio de la actividad antimicrobiana de ornidazol y otros seis antimicrobianos sobre bacterias anaerobias. *Enf Infecc Microbiol Clin* 1991; 9:219-222.
- ALLEN SD, EMERY CL, LYERLY DM. *Clostridium*. En: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC (eds). *Manual of Clinical Microbiology*, 8ª ed. Washington DC: ASM Press, 2003; pp 835- 856.
- BROWN PD, EBRIGHT JR. Skin and soft tissue infections in injection drug users. *Current Infect Dis Rep* 2002; 4:415-419.
- CORMICAN MG, ERWIN ME, JONES RN. False resistance to metronidazole by E-test among anaerobic bacteria investigations of contributing test conditions and medium quality. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1996; 24:117-119.

- DOWZICKY MJ, NADLER HL, SHEIKH W. Comparison of Sensititre broth microdilution and agar dilution susceptibility testing techniques for meropenem to determine accuracy, reproductibility and predictives values. *J Clin Microbiol* 1994; 32:2204-2207.
- DUBREUIL L, HOUCKE I, SINGER E. Susceptibility testing of anaerobic bacteria: evaluation of the redesigned (versión 96) bioMérieux ATB ANA device. *J Clin Microbiol* 1999; 37:1824-1828.
- GARCÍA JE, GARCÍA MI, MERINO ML. Infecciones por Clostridios. Situación actual. En: García Rodríguez JA (ed). *Infecciones por anaerobios 100 años después*. Madrid: Sociedad Española de Quimioterapia, 1994; pp 35-49.
- HALL GS, PARSHALL S. Use of the concentration gradient diffusion assay (E-test) for susceptibility testing of anaerobes, fungi, and *Mycobacterium* spp. *Clin Microbiol Newslett* 2002; 24:105-108.
- MANGELS JI. Anaerobic bacteriology. En: Isenberg HD (ed). *Clinical Microbiology Procedures Handbook*, 2ª ed. Washington DC: ASM Press, 2004: sección 4.
- LORBER B. Gas gangrene and other *Clostridium* associated diseases. En: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds). *Principles and practice of infectious diseases*, 5ª ed. Philadelphia: Churchill- Livingstone, 2000; pp 2549-2570.
- PÉREZ TRALLERO E, CUETO M, MIRANDA C. Bacilos grampositivos. En: de la Rosa M, Prieto J (eds). *Microbiología en ciencias de la salud. Conceptos y aplicaciones*, 2ª ed. Madrid: Elsevier, 2003; pp 84-90.
- STEVENS DL. Myositis and fasciitis. En: Root RK, Waldvogel F, Corey L, Stamm WE (eds). *Clinical infectious diseases. A practical approach*. New York: Oxford University Press, 1999; pp 767-771.

Tabla 4. Características de bacilos grampositivos anaerobios esporulados^{a, b}.

	Hidrólisis gelatina	Fermentación glucosa	Lecitinasa	Lipasa	Indol	Crecimiento aerobio	Urea	Nitratos	Movilidad	Esculina	Esporas
<i>C. bifermentans</i>	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	OS
<i>C. sordelli</i>	+	+	+	-	+	-	±	-	+	-	OS
<i>C. perfringens</i>	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	RV
<i>C. novyi A</i>	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	OS
<i>C. sporogenes</i>	+	+	-	+	-	-	-	-	+	+	OS
<i>C. cadaveris</i>	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-	OT
<i>C. septicum</i>	+	+	-	-	-	-	-	V	+	+	OS
<i>C. difficile</i>	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	OS
<i>C. putrificum</i>	+	+	-	-	-	-	-	-	+	- ⁺	T
<i>C. baratii</i>	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	S,RV
<i>C. tertium</i>	-	+	-	-	+	+	-	-	+	+	OT
<i>C. butyricum</i>	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	OS
<i>C. inocuum</i>	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	OT
<i>C. ramosum</i>	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	R,OT,RV
<i>C. clostridioforme</i>	-	+	-	-	- ⁺	-	-	±	+	+	OS,RV
<i>C. tetani</i>	+	-	-	-	V	-	-	-	+	-	RT
<i>C. hastiforme</i>	+	-	-	-	-	-	-	- ⁺	+	-	S
<i>C. subterminale</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	+	- ⁺	OS,RV
<i>C. histolyticum</i>	+	-	-	-	-	±	-	-	+	-	OS
<i>C. limosum</i>	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-	OS

^aAbreviaturas. +: positivo 90-100% de las cepas, -: negativo 90-100% de las cepas, ±: mayoría de las cepas positivas, -⁺: mayoría de las cepas negativas,

RV: raramente vista, O: oval, R: redonda, S: subterminal, T: terminal.

^bModificado de Isenberg HD.