

Evaluación de la actividad *in vitro* de combinaciones antibacterianas frente a *Staphylococcus aureus* meticilino resistente

Evaluation of in vitro Activity of Antibacterial Combinations against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*

Sergio Uribe Merlano^{1,3*} <https://orcid.org/0000-0002-2262-2922>

Marlene Durán Lengua¹ <https://orcid.org/0000-0002-1104-6675>

Roger Caraballo Marimón² <https://orcid.org/0000-0002-7386-0074>

¹Universidad de Cartagena, Facultad de Medicina. Cartagena de Indias, Colombia.

²Universidad de Cartagena, Facultad de Ciencias Farmacéuticas. Cartagena de Indias, Colombia.

³Corporación Universitaria Rafael Núñez, Programa de Medicina. Cartagena de Indias, Colombia.

*Autor para la correspondencia: S_uribem@yahoo.com

RESUMEN

Introducción: La resistencia antibacteriana es un fenómeno creciente que se caracteriza por la refractariedad parcial o total de los microorganismos al efecto antibiótico, lo que provoca tratamientos ineficaces e incremento del riesgo de propagación de los patógenos resistentes.

Objetivo: Evaluar la interacción farmacodinámica *in vitro* entre combinaciones de linezolid, vancomicina, daptomicina y tigeciclina frente a aislados clínicos de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina, provenientes de pacientes en un hospital local de Cartagena de Indias.

Métodos: Los aislados de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina fueron recuperados de muestras de esputo, sangre y orina de pacientes del Hospital Universitario del Caribe. Se enfrentaron a las combinaciones: linezolid-vancomicina, linezolid-daptomicina, linezolid-tigeciclina, vancomicina-tigeciclina, vancomicina-daptomicina y daptomicina-tigeciclina. Para evaluar la actividad de estas combinaciones se determinó la concentración mínima

inhibitoria y la concentración inhibitoria fraccionada utilizando las metodologías de microdilución en caldo y tablero de damas.

Resultados: Se evidenció que la combinación de tigeciclina-daptomicina presentó sinergismo *in vitro* en 93,8 % de los casos y se enfrentó a diferentes aislamientos clínicos de *Staphylococcus aureus*. La combinación vancomicina-tigeciclina mostró antagonismo en el 43,8 % de los ensayos e indiferencia en el 38 %. Otras combinaciones como vancomicina-daptomicina, linezolid-daptomicina, linezolid-vancomicina y linezolid-tigeciclina tuvieron un comportamiento farmacodinámico donde prevaleció la indiferencia.

Conclusiones: La combinación entre tigeciclina y daptomicina presenta mejor sinergismo antibacteriano *in vitro* frente a *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina, lo que la convierte en una alternativa promisorio frente a infecciones causadas por este patógeno. La combinación vancomicina-tigeciclina muestra antagonismo farmacológico, por lo que no debe ser utilizada *in vivo*.

Palabras clave: sinergismo farmacológico; *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina; prueba de sensibilidad microbiana; agentes antibacterianos.

ABSTRACT

Introduction: Antibacterial resistance is a growing phenomenon characterized by the partial or total refractoriness of microorganisms to antibiotic effect, which causes ineffective treatments and increases the risk of spreading resistant pathogens.

Objective: To evaluate *in vitro* pharmacodynamic interaction between combinations of linezolid, vancomycin, daptomycin and tigecycline against clinical isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from patients at a local hospital in Cartagena de Indias.

Methods: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates were recovered from sputum, blood, and urine samples from patients at the University Hospital of the Caribbean. The isolates were confronted to the combinations linezolid-vancomycin, linezolid-daptomycin, linezolid-tigecycline, vancomycin-tigecycline, vancomycin-daptomycin, and daptomycin-tigecycline. To evaluate the activity of these combinations, the minimum inhibitory concentration and the fractional inhibitory concentration were determined using a broth microdilution checkerboard method.

Results: The tigecycline-daptomycin combination was shown to present *in vitro* synergism in 93.8% of cases and was confronted to different clinical *Staphylococcus aureus* isolates. The vancomycin-tigecycline combination showed antagonism in 43.8% of the trials and indifference in 38%. Other combinations, such as vancomycin-daptomycin, linezolid-daptomycin, linezolid-vancomycin and linezolid-tigecycline, had a pharmacodynamic behavior in which indifference prevailed.

Conclusions: The tigecycline-daptomycin combination presents better *in vitro* antibacterial synergism against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, which makes it a promising alternative against infections caused by this pathogen. The vancomycin-tigecycline combination shows pharmacological antagonism, so it should not be used *in vivo*.

Keywords: pharmacologic synergism; methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*; microbial sensitivity tests; antibacterial agents.

Recibido: 24/02/2017

Aceptado: 23/05/2020

Introducción

La resistencia antibacteriana es un fenómeno creciente que se caracteriza por la refractariedad parcial o total de los microorganismos al efecto antibiótico, lo que causa tratamientos ineficaces con prolongación subsecuente de los tiempos de infección e incremento del riesgo de propagación de los patógenos resistentes.⁽¹⁾ En Colombia, el estudio de esta problemática se inició en los años noventa, pero no fue hasta la primera década del 2000 que se comenzó con la vigilancia continua. Entre los hallazgos encontrados se destaca la alta tasa de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM), que alcanza cifras del 80 % en las unidades de cuidados intensivos (UCI) de las principales ciudades del país. Lo que genera un impacto nefasto en los índices de morbimortalidad, costos y calidad de vida, convirtiéndose en un serio problema en los ambientes hospitalarios.^(2,3)

Como medida sanitaria, para afrontar esta problemática, la Organización Mundial de la Salud (OMS) propone estrategias para su control, con énfasis en la evaluación de combinaciones

antibacterianas para obtener actividad sinérgica que logre aumentar la eficacia terapéutica y disponer de mayores alternativas.⁽⁴⁾ Aunque a nivel internacional existen estudios relacionados con la temática, en Colombia no existen investigaciones que aborden el tema, convirtiéndose, entonces, en un problema serio de salud. Esto se debe a que la utilización *in vivo* de combinaciones de antibióticos debe tener un respaldo *in vitro*, en el que se incluyan variables como: perfil de resistencia antibacteriano local, productos aprobados en el territorio colombiano y marcas de medicamentos utilizados en las instituciones de salud.

El presente estudio tiene como objetivo evaluar la interacción farmacodinámica *in vitro* entre combinaciones de linezolid, vancomicina, daptomicina y tigeciclina frente a aislados clínicos de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina provenientes de pacientes en un hospital local de Cartagena de Indias.

Métodos

Aislados bacterianos

Se utilizaron 15 aislamientos clínicos de SARM, obtenidos del laboratorio clínico del Hospital Universitario del Caribe, que provenían de pacientes internados en los servicios de hospitalización. Los microorganismos estaban presentes en muestras de sangre, orina y esputo, identificados según codificación interna de la siguiente manera:

- muestras provenientes de sangre: S. a-S101, S. a-S102, S.a-S104, S. a-S108, S. a-S112,
- muestras provenientes de orina: S. a-O125, S. a-O126, S. a-O131, S. a-O132, S. a-O135
- muestras provenientes de esputo: S. a-E156, S. a-E157, S. a-E158, S. a-E159, S.a-E160

Todos fueron trasladados a los laboratorios de farmacología de la Universidad de Cartagena, en el periodo comprendido entre julio del 2015 y julio del 2016, y se recibieron en agar nutritivo. Como control se utilizó la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC (*American Type*

Culture Collection) 4330 resistente a meticilina,⁽⁵⁾ adquirida como polvo liofilizado en biodiagnóstica S.A.S.

Reactivación y control de pureza

La cepa ATCC liofilizada se reactivó mediante la rehidratación con 0,3 mL de caldo tioglicolato y luego fue sembrada en agar nutritivo e incubada en un periodo de 2-3 horas a 37 °C. Paralelamente, se seleccionaron cuatro colonias de las placas de agar nutritivo con aislamientos clínicos, las que fueron transferidas a 5 mL de caldo tioglicolato y se llevaron a incubación durante 2-3 horas a 37 °C.⁽⁶⁾

Del paso anterior se realizó un subcultivo en una placa de agar nutritivo, el cual se mantuvo en incubación durante 16 horas a 37 °C, de acuerdo a lo descrito en el 2015 por el Instituto de Normas Clínicas y de Laboratorio (CLSI por sus siglas en inglés)⁽⁷⁾ para observar las características físicas de las colonias.

Confirmación de identidad y curva de crecimiento bacteriano

La identidad de la cepa control, y aislados, se comprobó mediante pruebas bioquímicas, utilizando los sustratos clásicos específicos del sistema automatizado MicroScan autoSCAN-4 System[®], además de las pruebas de catalasa y coagulosa.

Para determinar el crecimiento bacteriano se inocularon cuatro colonias de *S. aureus* morfológicamente similares en un frasco con caldo Mueller-Hinton e incubaron a 37 °C. Se realizó el primer muestreo a los 30 minutos, a partir de este momento se tomaron muestras cada 60 minutos hasta completar las 24 horas para ser leídas en un espectrofotómetro MultiSkan MK3, Thermo.⁽⁸⁾

Preparación del inóculo

De una placa de agar nutritivo fueron seleccionadas colonias y se transfirieron a un frasco con 5 mL de caldo Mueller-Hinton, posteriormente se ajustó su turbidez hasta ser equivalente

al estándar 0,5 de McFarland (10^6 UFC/mL),⁽⁷⁾ lo que se comprobó en un espectrofotómetro leyendo a una longitud de onda de 625 nm, y una absorbancia entre 0,08-0,10.⁽⁹⁾

Determinación de la CMI individual de cada antibacteriano

La concentración mínima inhibitoria (CMI) de linezolid, vancomicina, daptomicina y tigeciclina se evaluó utilizando el método de microdilución en caldo, descrito en 2015 por el Instituto de Estándares Clínicos y mediante la preparación inicial de soluciones madre de cada antibiótico a 5120 μg por mililitro en agua estéril, que fueron diluidas hasta que se obtuvieron concentraciones finales de 128 μg /mL.⁽⁷⁾ A partir de estas concentraciones se realizaron diluciones dobles del antibiótico en tubos eppendorf hasta 0,25 μg /mL.

De estos últimos se dispensaron 50 μL en los pozos de las microplacas y se le agregó a cada uno 50 μL del inóculo para obtener concentraciones finales bacterianas de 5×10^5 UFC/mL y de diluciones de antibióticos desde 64 μg /mL hasta 0,125 μg /mL. Se utilizaron dos pozos con agua y dos con caldo Mueller-Hinton como blancos del antibacteriano e inóculo respectivamente. Las microplacas se incubaron a 37 °C por 24 horas para su lectura posterior.⁽⁹⁾

La CMI se definió como la menor concentración de antimicrobiano que inhibió el crecimiento microbiano.

Determinación de la interacción mediante tablero de damas

En una placa de 96 pozos se tomó la columna izquierda como eje Y, y la fila inferior como eje X. En los pozos del eje X se depositó el primer antimicrobiano a evaluar (antimicrobiano A), se variaron las concentraciones gradualmente de izquierda a derecha desde 1/64 hasta 2 veces la CMI. En los pozos del eje Y se depositó el segundo antimicrobiano (antimicrobiano B), variando las concentraciones de abajo hasta arriba desde 1/64 hasta 2 veces la CMI. Los volúmenes de medicamentos depositados fueron de 25 μL , empezando a partir del segundo pozo. A continuación se le agregó a cada pozo 50 μL de inóculo bacteriano ajustado previamente al estándar 0,5 de McFarland.⁽¹⁰⁾

Las combinaciones utilizadas fueron: linezolid-vancomicina, linezolid-daptomicina, linezolid-tigeciclina, vancomicina-tigeciclina, vancomicina-daptomicina y daptomicina-tigeciclina

Determinación de la concentración inhibitoria fraccionada (CIF)

Para el antimicrobiano A se dividió la concentración, de ese compuesto, necesaria para inhibir el crecimiento en una fila o columna por la CMI de ese antimicrobiano, frente al microorganismo ensayado. Del mismo modo, se calculó el CIF del antimicrobiano B, sumándose luego los dos para obtener la CIF total, para lo que se utilizó la ecuación:

$$(A)/(CMI)_a + (B)/(CMI)_b = CIF_a + CIF_b = CIF_t \text{ (o índice CIF)}$$

Según los valores de CIF obtenidos, se consideró que si $CIF \leq 0,5$ hay sinergismo, para $CIF > 0,5$ y $CIF < 2$ hay adición y si $CIF \geq 2$ hay antagonismo.⁽¹⁰⁾

Resultados

Determinación de la CMI individual de cada antibacteriano

Los resultados reflejaron que sin importar la procedencia de los microorganismos se mantuvieron los perfiles de sensibilidad ante un mismo antibiótico. También se observó que daptomicina y tigeciclina fueron los medicamentos que tuvieron mayor potencia *in vitro*, debido a que necesitaron 0,5 µg/mL para ejercer el efecto antibacteriano. Solo la cepa S. a-O131 mostró mayor resistencia a daptomicina. Sin embargo, la concentración necesaria para causar la inhibición (1 µg/mL) se mantuvo dentro del rango establecido por CLSI para ser considerado como sensible (Tabla 1).

Tabla 1 - Concentración mínima inhibitoria de antibacterianos frente a *Staphylococcus aureus*

CEPA	Vancomicina	Linezolid	Daptomicina	Tigeciclina	
S. a-ATCC 4330	2	4	0,5	0,5	
S. a-S101	2	4	0,5	0,5	
S. a-S102	2	4	0,5	0,5	
S. a-S104	2	4	0,5	0,5	
S. a-S108	2	4	0,5	0,5	
S. a-S112	2	4	0,5	0,5	
S. a-O125	2	4	0,5	0,5	
S. a-O126	2	4	0,5	0,5	
S. a-O131	2	4	1	0,5	
S. a-O132	2	4	0,5	0,5	
S. a-O135	2	4	0,5	0,5	
S. a-E156	2	4	0,5	0,5	
S. a-E157	2	4	0,5	0,5	
S. a-E158	2	4	0,5	0,5	
S. a-E159	2	4	0,5	0,5	
S. a-E160	1	4	0,5	0,5	
Interpretación ^a	S	= 2	= 4	= 1	0,5 ^b
	I	4-8	-	-	- ^b
	R	= 32	= 8	-	0,5 ^b

S. a-S: *S. aureus* provenientes de muestras de sangre; S. a-O: *S. aureus* aislados de muestras de orina; S. a-E: *S. aureus* provenientes de esputo. ^aCriterios de interpretación de puntos de corte (CLSI 2015); S: sensible; I: intermedio; R: resistente. ^bPuntos de corte EUCAST (European committee antimicrobial susceptibility testing).

Evaluación del sinergismo *in vitro*

En la figura se puede observar la interacción farmacodinámica de las distintas combinaciones antimicrobianas frente a la cepa *S. aureus* ATCC 4330. Los resultados obtenidos muestran que las combinaciones más eficaces fueron vancomicina-tigeciclina (CIF: 0,3125), linezolid-tigeciclina (CIF: 0,3125) y daptomicina- tigeciclina (CIF: 0,25), siendo esta última la que presentó sinergismo cuando fueron utilizadas concentraciones más bajas de ambos antibióticos, (0,125 µg/mL de vancomicina y 0,0625 µg/mL de daptomicina). Por otro lado, las combinaciones de linezolid-vancomicina, linezolid-daptomicina y vancomicina-daptomicina mostraron CIFs de 0,750; 0,750 y 1,250, respectivamente, por lo que se catalogan como indiferentes

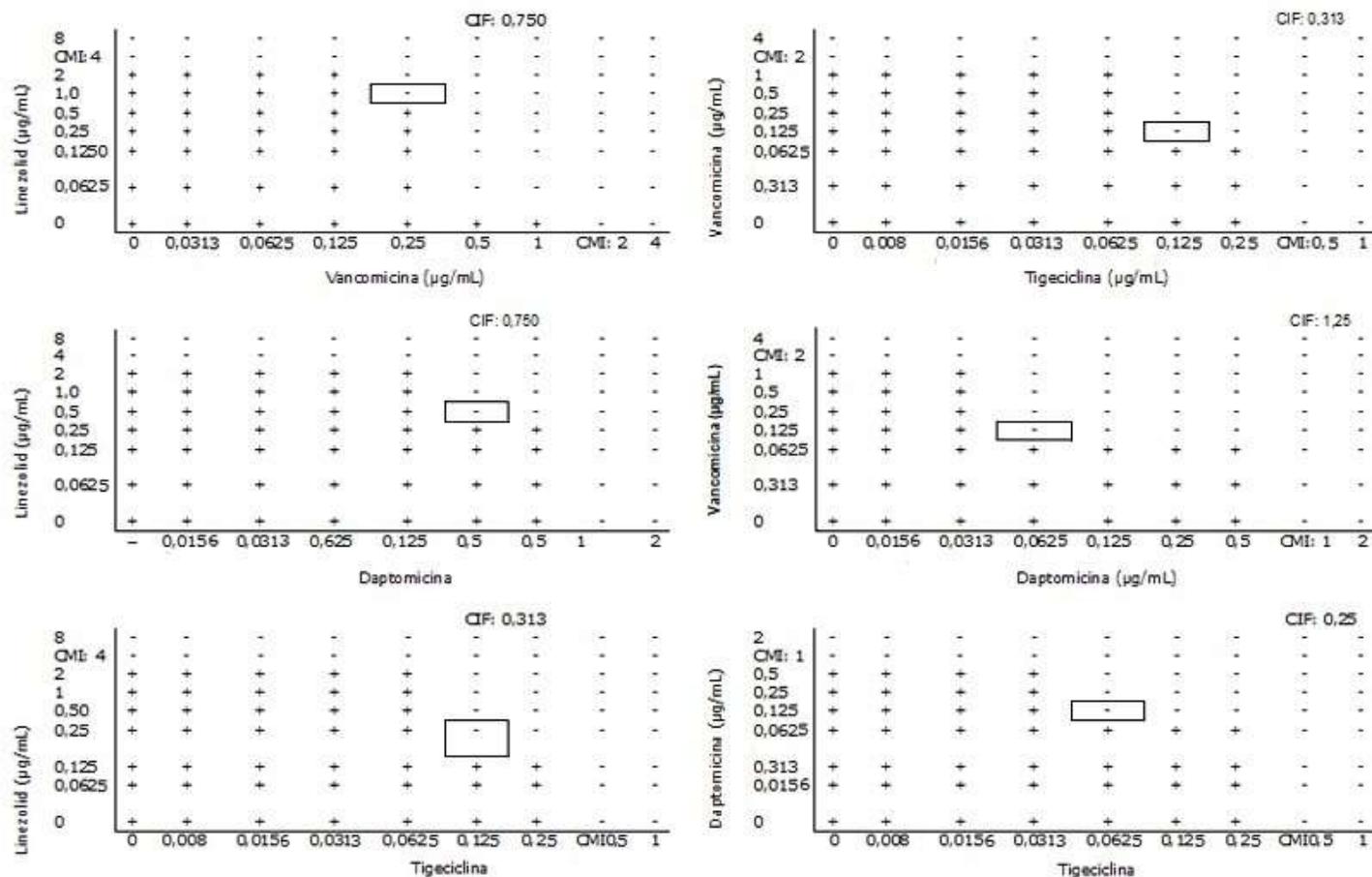


Fig. – Representación en tablero de damas de las combinaciones antimicrobianas frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 4330. La tabla 2 muestra la actividad antibacteriana de las seis combinaciones frente a las cepas de SARM, los resultados reflejan que linezolid-vancomicina presentó indiferencia en el 87,5 % de los ensayos, siendo 0,667 la CIF más baja y mostrada frente a aislamientos provenientes de sangre. Sin embargo, al agrupar las muestras según el origen del aislamiento, se encontró que ante las muestras de sangre la combinación presentó sinergismo en el 25 % de los casos, aunque frente a aislamientos provenientes de orina y esputo, la indiferencia fue del 100 %.

Tabla 2 - Concentraciones inhibitorias fraccionadas de las diferentes combinaciones frente a cepas de *Staphylococcus aureus*

Cepa N°	LZD-VNC		LZD-DPT		LZD-TGC		VNC-TGC		VNC-DPT		DPT-TGC	
	Σ CIF	Actividad	Σ CIF	Actividad	Σ FIC	Actividad	Σ CIF	Actividad	Σ CIF	Actividad	Σ CIF	Actividad
S. a-S101	0,417	S	0,833	I	1	I	1,208	I	0,750	I	0,333	S
S. a-S102	0,750	I	1	I	1,5	I	0,375	S	2	I	0,292	S
S. a-S104	0,917	I	0,750	I	1,5	I	0,254	S	1	I	0,292	S
S. a-S108	1,167	I	0,750	I	1,5	I	1,250	I	0,750	I	0,625	I
S. a-S112	0,667	I	0,750	I	1,5	I	1,208	I	1	I	0,250	S
S. a-O125	0,833	I	0,833	I	0,917	I	1,500	I	0,833	I	0,250	S
S. a-O126	0,917	I	0,833	I	0,354	S	2,333	A	0,750	I	0,375	S
S. a-O131	0,833	I	0,750	I	0,917	I	3,083	A	0,833	I	0,375	S
S. a-O132	0,833	I	0,833	I	0,375	S	1,417	I	0,750	I	0,333	S
S. a-O135	0,917	I	0,917	I	0,750	I	3,000	A	0,750	I	0,250	S
S. a-E156	0,917	I	0,917	I	1	I	1,250	I	0,750	I	0,229	S
S. a-E157	0,833	I	0,133	I	0,833	I	2,667	A	0,750	I	0,250	S
S. a-E158	1,333	I	0,750	I	0,917	I	2,000	A	0,750	I	0,250	S
S. a-E159	1,167	I	0,750	I	0,375	S	2,000	A	0,750	I	0,250	S
S. a-E160	1,750	I	1	I	0,917	I	2,000	A	0,750	I	0,375	S
ATCC 4330	0,750	S	0,750	I	0,313	S	0,313	S	1,250	I	0,250	S

S. a-S: *S. aureus* provenientes de muestras de sangre; S. a-O: *S. aureus* aislados de muestras de orina; S. a-E: *S. aureus* provenientes de esputo.

S: sinergismo; I: indiferencia; A: antagonismo.

S: CIF ≤ 0,5; I: CIF > 0,5 y < 2; A: CIF ≥ 2.

Discusión

Determinación de la actividad antibacteriana

Los resultados obtenidos muestran que la tigeciclina y la daptomicina presentan mayor actividad antibacteriana que el linezolid y la vancomicina, lo que se relaciona con la potencia de los dos primeros fármacos. Sin embargo, hay que tener en cuenta factores como el tiempo de comercialización desde que la Agencia de Alimentos y Medicamentos (FDA por sus siglas en inglés) los aprobó y su utilización clínica como medicamentos de primera, segunda o tercera línea terapéutica.

En el primer caso, la menor exposición de las bacterias a la tigeciclina (comercializada desde 2005) contribuye a impedir el desarrollo de las mutaciones necesarias para generar los mecanismos de resistencia; caso contrario al de la vancomicina la que se encuentran en el mercado desde 1955. En clínica, la daptomicina pasa a ser tercera o cuarta elección en algunas infecciones complicadas causadas por SARM, en cambio la vancomicina es la primera cuando se sospecha que la enfermedad es por este estafilococo.

Lo observado anteriormente corrobora lo expuesto por *Picazo* y otros en su investigación,⁽¹¹⁾ en la que la tigeciclina y la daptomicina presentaban mayor actividad *in vitro* que muchos fármacos, incluso entre los que mostraron resistencia cruzada como ciprofloxacino, gentamicina, teicoplanina y tetraciclina. Además, estos resultados se correlacionan con la alta efectividad que estas presentan *in vivo*, como lo demostraron *Araos* y otros en el 2011, quienes describieron su eficacia en tratamientos de infecciones de la piel, tejidos blandos, bacteriemia, endocarditis y otras infecciones muy comunes en clínica⁽¹²⁾.

En el presente estudio también se evidencia que linezolid es el antibiótico con menor potencia *in vitro* frente a los aislamientos clínicos y cepa ATCC, necesitando concentraciones de 4 µg/mL para causar inhibición. Lo que significa que en este modelo es una alternativa poco eficaz, sin embargo, en la práctica clínica se considera como una de las principales opciones terapéuticas al enfrentar infecciones por SARM. De hecho, es el antibiótico a escoger cuando se evidencia la resistencia a vancomicina. Incluso, en la neumonía por SARM, linezolid ha obtenido tasas de curación clínica y de supervivencia significativamente superiores a las alcanzadas por el glucopeptido, o en la infección

complicada de piel y partes blandas la oxazolidinona ha sido significativamente más eficaz que la vancomicina.⁽¹³⁾ Esto se debe, probablemente, a que las modificaciones bacterianas al sitio de unión de la oxazolidinona en el ribosoma durante la síntesis de proteínas es menos frecuente que la sustitución realizada al péptido D-alanil-D-alanina terminal por D-alanil-D-lactato, siendo este último el principal impedimento para la acción de la vancomicina.

Sin embargo, existe gran preocupación por el incremento de cepas SARM resistentes a linezolid, producto de la recombinación homóloga entre cepas con genes mutantes y cepas salvajes bajo la presión selectiva del fármaco. A lo que se le une, su uso cada vez más frecuente, sobre todo en terapias a largo plazo, por sus ventajas farmacocinéticas y, especialmente, por el hecho que su disponibilidad de administración por vía oral favorecen que la resistencia pueda extenderse.⁽¹⁴⁾

Cada uno de los antibióticos ensayados mantuvo igual su actividad antibacteriana frente a todos los aislamientos clínicos y cepas de referencia. Lo que permite suponer que las diferencias *in vivo* de un mismo medicamento utilizado en distintas enfermedades están relacionadas, principalmente, con parámetros como la distribución o penetración al lugar de la infección. Esto motiva una racionalización de su uso, porque son alternativas que se pueden utilizar mientras no se induzcan resistencias que obliguen a la búsqueda de opciones más costosas. Estos resultados concuerdan con lo publicado por *Mensa* y otros, en el 2013, en su investigación realizada en 16 hospitales de diferentes ciudades españolas, que terminó convirtiéndose en una información crucial para desarrollar la guía de tratamiento antimicrobiano de infecciones por *Staphylococcus aureus*.⁽¹³⁾

Evaluación del sinergismo *in vitro*

Los resultados muestran la existencia de diferentes interacciones farmacológicas entre las combinaciones. El hecho que se ensayaran medicamentos bacteriostático-bacteriostático, bactericida-bactericida o bacteriostático-bactericida no supone un factor predictivo, como tampoco que el mecanismo de acción sea sobre el mismo blanco farmacológico o una diana diferente, dicho de otra manera, no se encontró ningún patrón en el comportamiento.

La combinación vancomicina-linezolid muestra indiferencia en el 87,5 % de los casos. Estos resultados corroboran lo reportado por *Kelesidis* y otros en el 2011, donde la misma

combinación presentó un CIF de 1 con la utilización de la metodología de tablero de damas y antagonismo cuando se evaluó su actividad mediante curva de letalidad.⁽¹⁵⁾ A pesar de esto, *Steed* y otros, con la utilización de ensayos *in vivo*, en modelos de endocarditis en conejos, para correlacionar farmacocinética/farmacodinamia mostró la existencia de sinergismo farmacológico, reafirmando la variabilidad e impredecibilidad de estas interacciones.⁽¹⁶⁾

La indiferencia farmacodinámica se caracteriza porque la concentración inhibitoria de la combinación no presenta diferencias significativas con alguno de los antimicrobianos utilizados individualmente, esto se concluye después que el cálculo de la CIF se encuentra entre 1 y 2, tal como se aprecia en la combinación vancomicina-daptomicina de la figura. Lo que fue corroborado por *Entenza* y otros en un estudio sobre las diferentes interacciones farmacológicas que se presentaban entre combinaciones de macrólidos, betalactámicos, glucopéptidos, oxazolidinonas, gliciclinas y lipopéptidos frente a enterococos, estafilococos y estreptococos.⁽¹⁷⁾

El análisis estadístico demuestra que, de todos los bioensayos realizados, la combinación que presenta mayor sinergismo *in vitro* es daptomicina-tigeciclina con rangos de CIF entre 0,250 y 0,375 con una efectividad del 93,7 % ante el total de bacterias. Sin embargo, frente a las cepas aisladas de muestras de sangre el sinergismo es del 75 %, siendo el 25 % restante indiferente con una CIF de 0,625. Otras combinaciones como vancomicina-daptomicina y linezolid-daptomicina muestran, en el 100 % de los casos, indiferencia frente a todas las cepas utilizadas, registrando CIF entre 0,750-2,0 y 0,750-1,0 respectivamente. Esto corrobora los ensayos realizados por *Sader* y otros en el 2009, en los cuales la actividad predominante de ambas combinaciones frente al patógeno *S. aureus* fue la indiferencia farmacodinámica. Por este motivo su utilización en clínica no debe causar un efecto beneficioso diferente cuando se compara con alguno de los dos componentes de la mezcla, por el contrario, aumentaría las probabilidades de provocar reacciones adversas a los pacientes.⁽¹⁸⁾

Los resultados permiten determinar las mezclas que ofrecen la mejor actividad *in vitro*, lo que constituye una información valiosa que puede contribuir a la orientación de estudios *in vivo* para establecer pautas en la terapia antibacteriana en infecciones causadas por estafilococo en el Hospital Universitario del Caribe.

Se puede concluir que la combinación entre tigeciclina y daptomicina presenta mejor sinergismo antibacteriano *in vitro* frente a *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina, lo que la convierte en una alternativa promisorio frente a infecciones causadas por este patógeno. La combinación vancomicina-tigeciclina muestra antagonismo farmacológico, por lo que no debe ser utilizada *in vivo*.

Referencias bibliográficas

1. Alos J. Resistencia bacteriana a los antibióticos: una crisis global Antibiotic resistance: A global crisis. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. 2015;33(10):692-99.
2. Espinosa C, Castillo JS, Cortés JA, Leal AL. Revisión sistemática de la resistencia antimicrobiana en cocos Gram positivos intrahospitalarios en Colombia. *Biomédica*. 2011;31:27-34.
3. Yomayusa N, Álvarez CA, Hernández PA, Ibáñez M, Sossa MP, Suárez C, *et al*. Las infecciones por *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina son un problema de salud pública. *Revista Médica Sanitas*. 2009;3:8-16.
4. Organización Mundial de la Salud. Resistencia a los antimicrobianos. Ginebra: OMS; 2013 [acceso 19/08/2016]. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs194/es/>
5. Sueke H, Kaye SB, Neal T, Hall A, Tuft S, Parry CM. An in vitro investigation of synergy or antagonism between antimicrobial combinations against isolates from bacterial keratitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2010;51(8):4151-55. DOI:[10.1167/iovs.09-4839](https://doi.org/10.1167/iovs.09-4839)
6. American Type Culture Collection. *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* Rosenbach (ATCC® 43300™). Manassas VA: ATCC; 2010 [acceso 18/08/2016]. Disponible en: <https://www.atcc.org/products/all/43300.aspx#documentation>
7. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). M100. Performance Standards For Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Fourth Informational Supplement. 2015;25:1-240.

8. Zhurbenko R, Rodríguez Martínez C, Díaz Pérez M, Durán Vila A, López Hernández O, Viera Oramas D. Caracterización de la peptona de soya para el cultivo de microorganismos. *Revista Cubana de Medicina Tropical*. 2006 [acceso 03/07/2020];58(2):109-118. Disponible en:
https://imbiomed.com.mx/1/1/articulos.php?method=showDetail&id_articulo=38892&id_seccion=595&id_ejemplar=4013&id_revista=71
9. Carret G, Cavallo J, Chardon H, Chidiac C, Choutet P, Courvalin P, *et al.* 2001. Comité De L'antibiogramme De La Société Française De Microbiologie Report 2000-2001. Francia: Centre Hospitalier Universitaire Henri Mondor; 2015 [acceso 17/08/2016]. Disponible en:
http://www.sfm-microbiologie.org/UserFiles/files/casfm_2002english.pdf.
10. Madhuri M, Sopirala. Synergy Testing by Etest, Microdilution Checkerboard, and Time-Kill Methods for Pan-Drug-Resistant *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2010;54(11):4678-4683.
11. Picazo J, Betriu C, Rodríguez-Avial I, Culebras E, López F, Gómez M, Grupo VIRA. Actividad comparativa de la daptomicina frente a *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina y frente a estafilococos coagulasa negativa. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. 2010;28(1):13-16.
12. Araos R, García P, Chanqueo L, Labarca J. Daptomicina: características farmacológicas y aporte en el tratamiento de infecciones por cocáceas gram positivas. *Revista chilena de infectología*. 2012;29(2), 127-31.
13. Mensa J, Soriano A, Llinares P, Barberán J, Montejo M, Salavert M, *et al.* Guía de tratamiento antimicrobiano de la infección por *Staphylococcus aureus*. *Revista Española de Quimioterapia*. 2013;26 (Supl 1):1-84.
14. Aguadero V, González-Velasco C, Vindel A, González-Velasco Moreno J. Situación actual de la infección por *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina en Extremadura: sensibilidad, clonalidad, y protagonismo de la adquisición extrahospitalaria. *Revista Española de Quimioterapia*. 2014;27(3):180-89.
15. Kelesidis T, Humphries R, Ward K, Lewinski M, Yanga O. Combination therapy with daptomycin, linezolid, and rifampin as treatment option for MRSA meningitis and bacteremia. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 2011;71:286-90.

16. Steed M, Vidaillac C, Rybak M. (2010). Novel Daptomycin Combinations against Daptomycin-Nonsusceptible Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in an In Vitro Model of Simulated Endocardial Vegetations. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2010;54(12):5187-92
17. Entenza J, Moreillon P. Tigecycline in combination with other antimicrobials: a review of in vitro, animal and case report studies. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2009;34(1):8.e1-9. DOI: [10.1016/j.ijantimicag.2008.11.006](https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2008.11.006)
18. Sader H, Fritsche T, Jones R. The evaluation of the bactericidal activity of daptomycin, vancomycin and linezolid and determination of the interactions of these antimicrobials with gentamicin or rifampin against *S. aureus*. (2009). EE. UU.: JMI Laboratories-North liberty, IA; 2016. [acceso 17/08/2016]. Disponible en: <https://jmilabs.com/data/posters/ECCMID2007/706.PDF>

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existe conflicto de intereses.

Contribuciones de los autores

Sergio Uribe Merlano: conceptualización; investigación; curación de datos; adquisición de fondos; análisis formal; software; metodología; redacción de borrador original.

Marlene Durán Lengua: conceptualización; administración de proyecto; análisis formal; metodología; adquisición de fondos; supervisión; redacción; revisión y edición.

Roger Caraballo Marimón: conceptualización; administración de proyecto; análisis formal; adquisición de fondos; validación de datos; recursos; redacción; revisión y edición.