



## P-011. Las combinaciones de daptomicina con ampicilina, ceftarolina o fosfomicina son sinérgicas *in vitro* y previenen la aparición de resistencias a la daptomicina en enterococos resistentes a la vancomicina

C. García-de-la-María<sup>1</sup>, A. Grebenshchikova<sup>1</sup>, J. García-González<sup>1</sup>, Diana Panesso<sup>2</sup>, MA. Cañas<sup>1</sup>, M. Almela<sup>1</sup>, J. Ambrosioni<sup>1</sup>, A. Moreno<sup>1</sup>, C.A. Arias<sup>2</sup>, J.M. Miró<sup>1</sup> y el Grupo de Estudio de la Endocarditis del Hospital Clínic. <sup>1</sup>Hospital Clínic - IDIBAPS. Universidad de Barcelona, Barcelona. <sup>2</sup>Center for Antimicrobial Resistance and Microbial Genomics (CARMIG), UTHealth McGovern Medical School, Houston, Texas, EEUU

E-mail: jmmiro@ub.edu

**Justificación:** *Enterococcus spp* es el tercer agente etiológico más frecuente en la endocarditis infecciosa. Su tratamiento es difícil, en parte debido a la habilidad que presentan en adquirir resistencias antibióticas (p. ej. vancomicina), hecho que los ha convertido en un problema de salud pública. Se sabe que la combinación de daptomicina con agentes antibacterianos que actúan sobre la pared (como los betalactámicos o la fosfomicina) frente a estafilococos es sinérgica, tiene actividad bactericida y previene la aparición de poblaciones resistentes a la daptomicina. Estas combinaciones también podrían ser activas frente a los enterococos resistentes a vancomicina (ERV).

**Objetivo:** Estudiar la actividad *in vitro* de daptomicina en combinación con ampicilina, ceftarolina o fosfomicina frente a 2 cepas de *Enterococcus faecalis* y 4 cepas de *Enterococcus faecium*, todas ERV (MIC >256 µg/mL; vanA).

**Materiales y Métodos:**

**MICROORGANISMOS:** Se realizó el estudio con 6 cepas resistentes a la vancomicina procedentes del Laboratorio del Dr. C. Arias (UTHealth McGovern Medical School, Houston, Texas, EEUU): 2 cepas de *E. faecalis* y 4 cepas de *E. faecium* (genotipo Van A).

**DETERMINACIÓN DE LA SENSIBILIDAD ANTIBIÓTICA:** La concentración mínima inhibitoria (CMI) y la concentración mínima bactericida (CMB) de daptomicina, ampicilina, vancomicina, fosfomicina y ceftarolina se realizaron por el método de microdilución en caldo Mueller Hinton suplementado con Ca<sup>2+</sup> a concentración final de 50 mg/L para daptomicina siguiendo las recomendaciones del CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). *E. faecalis* ATCC 29212 se utilizó como cepa control, y la CMI por E-test para gentamicina y estreptomina.

**DETERMINACIÓN DE LA SINERGIA ANTIBIÓTICA:** El estudio de sinergia se realizó por curvas de letalidad para las combinaciones de daptomicina con fosfomicina, ceftarolina o ampicilina a dos inóculos (estándar [10<sup>5</sup> ufc/ml] y elevado [10<sup>8</sup> ufc/ml: equivalente a la densidad de bacterias en las vegetaciones maduras]). Los antibióticos se estudiaron a concentraciones de 1/4xCMI, 1/2xCMI, 1xCMI y 2xCMI; en aquellos casos en que las CMI excedieron las concentraciones séricas (Fosfomicina, Ceftarolina y Ampicilina), la concentración a estudiar se fijó en 1/2xC<sub>max</sub> y 1xC<sub>max</sub>.

**Resultados:**

Tabla 1. Las cepas de *E. faecium* mostraron resistencia a ampicilina y ceftarolina (CMI/CMB ≥ 32 µg/mL) mientras que las cepas de *E. faecalis* fueron susceptibles a ambos antibióticos (ampicilina [CMI/CMB ≤ 2/2 µg/mL], ceftarolina [CMI/CMB ≤ 4/16 µg/mL]). Todas las cepas presentaron resistencia a la fosfomicina (CMI/CMB ≥ 64 µg/mL). Todas las cepas presentaron resistencia de alto nivel a aminoglicósidos, excepto una que fue sensible a la gentamicina.

Tabla 1. CMI/CMB de los diferentes antibióticos para las cepas estudiadas.

MICROORGANISMO	DAPTOMICINA* (INÓCULO ESTÁNDAR)	DAPTOMICINA* (INÓCULO ELEVADO)	AMPICILINA*	VANCOMICINA*	FOSFOMICINA*	CEFTAROLINA*	GENTAMICINA*	ESTREPTOMICINA*
ERV-31 (EFAE)	1/8	8/16	1/1	>256/>256	64/>128	4/16	>1024	>1024
ERV-32 (EFAE)	1/8	8/16	1/2	>256/>256	64/128	2/16	>1024	>1024
ERV-1 (EFAE)	4/4	16/32	256/>512	>256/>256	128/>128	32/>128	>1024	>1024
ERV-35 (EFAC)	2/4	16/16	256/512	>256/>256	128/>128	64/>128	4	>1024
ERV-98 (EFAC)	2/8	8/8	512/>512	>256/>256	64/64	128/>128	>1024	>1024
ERV-99 (EFAC)	2/8	8/16	256/>512	>256/>256	128/128	32/>128	>1024	>1024

\*µg/mL

Tabla 2. Resumen de las combinaciones antibióticas estudiadas.

MICROORGANISMO	DAPTOMICINA (INÓCULO ESTÁNDAR) + FOSFOMICINA	DAPTOMICINA (INÓCULO ELEVADO) + FOSFOMICINA	DAPTOMICINA (INÓCULO ESTÁNDAR) + CEFTAROLINA	DAPTOMICINA (INÓCULO ELEVADO) + CEFTAROLINA	DAPTOMICINA (INÓCULO ESTÁNDAR) + AMPICILINA	DAPTOMICINA (INÓCULO ELEVADO) + AMPICILINA
ERV-31 (EFAE)	SINERGIA	INDIFERENCIA	SINERGIA	INDIFERENCIA	SINERGIA	INDIFERENCIA
ERV-32 (EFAE)	SINERGIA	INDIFERENCIA	SINERGIA	INDIFERENCIA	SINERGIA	INDIFERENCIA
ERV-1 (EFAE)	SINERGIA	INDIFERENCIA	SINERGIA	INDIFERENCIA	SINERGIA	INDIFERENCIA
ERV-35 (EFAC)	SINERGIA	INDIFERENCIA	SINERGIA	INDIFERENCIA	SINERGIA	INDIFERENCIA
ERV-98 (EFAC)	SINERGIA	INDIFERENCIA	SINERGIA	INDIFERENCIA	SINERGIA	INDIFERENCIA
ERV-99 (EFAC)	SINERGIA	INDIFERENCIA	SINERGIA	INDIFERENCIA	SINERGIA	INDIFERENCIA

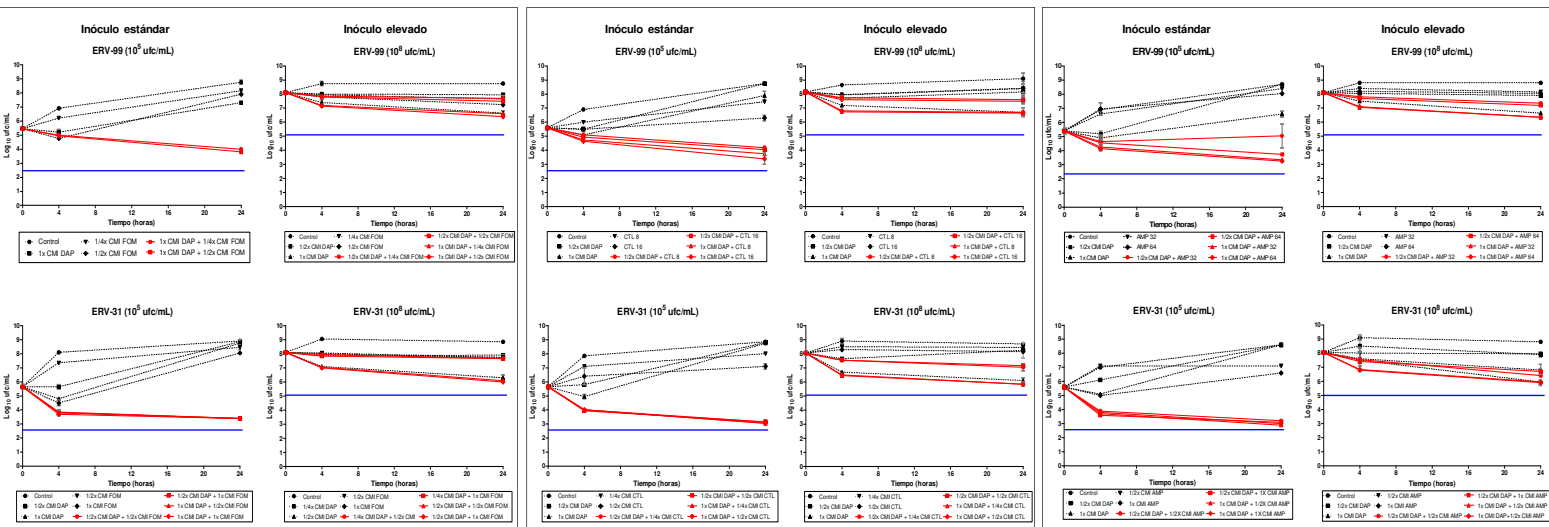
Tabla 2. El estudio de sinergia mostró que a inóculo estándar las combinaciones de daptomicina con fosfomicina, ceftarolina o ampicilina presentaron sinergia para las seis cepas del estudio pero no se detectó actividad bactericida en ningún caso. En presencia del inóculo elevado, la sinergia se perdió frente a todas las cepas y las combinaciones fueron indiferentes. 2/6 cepas (33%) desarrollaron resistencia a daptomicina en monoterapia. No se recuperaron aislados resistentes a la daptomicina en ninguna combinación.

Figuras 1-3. Se muestran curvas representativas para los *E. faecium* y *E. faecalis*, y sus diferentes combinaciones antibióticas: Daptomicina + Fosfomicina (FIGURA 1), Daptomicina + Ceftarolina (FIGURA 2) y Daptomicina + Ampicilina (FIGURA 3).

FIGURA 1. Daptomicina + Fosfomicina

FIGURA 2. Daptomicina + Ceftarolina

FIGURA 3. Daptomicina + Ampicilina



**Conclusiones:** Las combinaciones de daptomicina con ampicilina, ceftarolina o fosfomicina fueron sinérgicas a inóculo estándar frente a cepas ERV y previnieron el desarrollo de aislados resistentes a la daptomicina en todos los casos. En una siguiente fase del estudio se estudiará su eficacia en el modelo *in vivo* de endocarditis experimental.