



# Eficacia de las combinaciones antimicrobianas para el tratamiento de infecciones enterocócicas: una revisión crítica

Ivone Jiménez Toro<sup>1</sup>, Carlos A. Rodríguez<sup>1</sup> y Andrés F. Zuluaga<sup>1</sup>

<sup>1</sup>CIEMTO: Centro de Información y Estudio de Medicamentos y Tóxicos. Departamento de Farmacología y Toxicología, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

Conflicto de intereses. UT declara no tener conflicto de intereses. CAR ha recibido honorarios por conferencias no relacionadas de Allergan, Biosidus y Novartis; AFZ ha recibido honorarios por conferencias no relacionadas de Allergan, Amgen, Lilly, Mundipharma, Novo Nordisk, Pfizer, Roche y Sanofi. Ninguna de estas compañías u otra compañía farmacéutica estuvo involucrada en el diseño, ejecución o publicación de esta revisión.

Fuente de financiación: Departamento Administrativo de Ciencia, Tecnología e Innovación COLCIENCIAS (contrato 111571149738) y convocatoria 785 (Doctorados nacionales COLCIENCIAS).

Recibido: 8 de agosto de 2018  
Aceptado: 21 de Julio de 2019

**Correspondencia a:**  
Andrés F. Zuluaga Salazar  
andres.zuluaga@udea.edu.co

## Effectiveness of the antibiotic combinations for enterococcal infections treatment: a critical review

During the last decades, enterococci have emerged as important etiological agents in bacteremia, osteomyelitis, endocarditis and soft tissue infections. Antimicrobial combinations have been the most used therapeutic strategies for these infections, aiming for a bactericidal synergistic effect. However, besides *in vitro* and *in vivo* models, the clinical usefulness of such combinations is controversial, especially in non-endocardic systemic infections. For example, although beta-lactam and aminoglycoside combinations or double beta-lactam treatment have achieved high cure rates in endocarditis, the optimal treatment has not yet been clarified or if these combinations are useful in other infections. The aim of this review was to analyze and summarize the results from several experimental models of antienterococcal combined therapy and from clinical trials available in PubMed/Medline, to better assess the evidence that supports the use of these combinations. In conclusion, the available information is scarce, and more and better *in vivo* models and clinical studies are required to confirm the potential synergistic activity of antienterococcal combinations.

**Keywords:** *Enterococcus*; animal models; drug; combination therapy.

**Palabras clave:** *Enterococcus*; modelos animales; terapia combinada.

## Introducción

En las últimas tres décadas, especies del género *Enterococcus* han emergido como importantes agentes etiológicos de infecciones nosocomiales (Centers for Disease Control and Prevention, 2013). En los Estados Unidos de América se le atribuyen a estos patógenos más de 66.000 infecciones por año, de las cuales 22.000 son causadas por *Enterococcus* resistente a vancomicina (VRE, por su sigla en inglés) y más de 1.300 muertes están asociadas con cepas fármaco-resistentes<sup>1</sup>.

*Enterococcus faecalis* y *Enterococcus faecium*, son las dos especies de mayor relevancia clínica: el primero representa aproximadamente 80% de los aislados enterocócicos que afectan principalmente a pacientes críticamente enfermos, inmunocomprometidos o de edad avanzada<sup>2</sup>. Estos patógenos causan una amplia variedad de infecciones que incluyen: bacteriemias, endocarditis, osteomielitis, infecciones de la cavidad abdominal, pélvicas, de tejidos blandos e infecciones urinarias<sup>3,4</sup>. Las bacteriemias y la endocarditis infecciosa (EI) son las infecciones más graves y difíciles de tratar, con tasas de mortalidad entre 28 y 75% en bacteriemia<sup>5</sup> y en EI entre 20 y 40%<sup>6</sup>.

Diferentes factores de virulencia contribuyen a la patogénesis de las infecciones enterocócicas. La adhesión,

colonización e invasión de los tejidos del hospedero y la producción de toxinas aumentan la gravedad de la infección. *Enterococcus faecalis* es la especie más virulenta y forma biopelículas con mayor frecuencia en comparación con *E. faecium* (87-95% vs 16-29%, respectivamente)<sup>7,8</sup>. La expresión de otros rasgos de virulencia, incluidos la proteína de superficie de *Enterococcus* (Esp), sustancia de agregación, citolisina y gelatinasa, también son más frecuentes en *E. faecalis* y contribuyen a que esta especie presente tasas más altas de morbilidad y mortalidad<sup>9</sup>.

*Enterococcus* puede adquirir o expresar resistencia intrínseca a una amplia variedad de antimicrobianos en uso clínico. Exhibe alto nivel de resistencia a la mayoría de las cefalosporinas, a todas las penicilinas semisintéticas, clindamicina, aminoglucósidos y a cotrimoxazol<sup>10</sup>. Adicionalmente, es tolerante a los antimicrobianos que inhiben la síntesis de la pared celular como son los β-lactámicos y glicopéptidos<sup>11</sup>. Por otro lado, cepas resistentes a vancomicina, ampicilina o aminoglucósidos, son aisladas cada vez con mayor frecuencia, y también se ha descrito resistencia a los nuevos fármacos con actividad anti-VRE como daptomicina, tigeciclina y linezolid<sup>10</sup>.

Históricamente, el manejo de las infecciones enterocócicas ha sido difícil. En la década del '50, se describió el fracaso terapéutico de la monoterapia con penicilina o estreptomina para el tratamiento de la endocarditis<sup>12,13</sup>.



Esto impulsó diferentes investigaciones, principalmente con modelos *in vitro*, con las cuales se definieron nuevas terapias con efecto sinérgico bactericida<sup>14</sup>. Por esta razón, durante décadas las guías para el tratamiento de la endocarditis infecciosa han recomendado la terapia combinada como primera línea<sup>15</sup>.

El propósito de esta revisión es analizar y resumir los resultados obtenidos de diferentes modelos experimentales de combinaciones anti-enterocócicas y de los estudios clínicos disponibles en PubMed/Medline, a fin de evaluar mejor la evidencia que soporta la utilización de estas combinaciones.

## Métodos

### Fuente de datos

Se realizó la búsqueda de artículos indexados en la base de datos PubMed/Medline en inglés, entre 1940 y 2017. Los términos utilizados fueron: (“*Enterococcus*/drug effects”[Mesh] AND “Drug Therapy, Combination”[Mesh]) AND (“Comparative Study”[All Fields] OR “pharmacodynamics”[All Fields] OR “pharmacokinetics”[All]). Si durante la revisión y análisis de los artículos seleccionados se encontraba una referencia a un trabajo adicional de interés que no había sido detectado con la estrategia de búsqueda, se decidió incluirlo para fortalecer la revisión.

### Criterios de exclusión

Se excluyeron los artículos que no involucraron infecciones enterocócicas sistémicas, utilizaron modelos no mamíferos, emplearon antimicrobianos en monoterapia o sin aplicabilidad clínica, estudiaron sustancias diferentes a antimicrobianos, o artículos sin acceso a texto completo.

### Análisis de datos

La siguiente información fue obtenida y tabulada a partir de los artículos revisados: (i) título del artículo, (ii) combinación antimicrobiana estudiada, (iii) cepas de *Enterococcus*, (iv) tipo de estudio: *in vitro*, *in vivo* o ensayo clínico, (v) infecciones enterocócicas endocárdicas o sistémicas no endocárdicas, (vi) efecto de la combinación, (vii) año de publicación, y (viii) revista. Los resultados obtenidos se presentan en forma descriptiva, incluyendo promedios y porcentaje cuando aplique. Ninguna prueba estadística fue aplicada, debido a la heterogeneidad de la información.

## Resultados

Se encontraron 75 artículos, de los cuales se excluyeron 24, porque en 12 de estos las combinaciones estudiadas no

eran de antimicrobianos en uso clínico, en cuatro probaron únicamente monoterapia, tres de ellos emplearon modelos en invertebrados, dos incluían infecciones no sistémicas y en tres artículos la versión completa fue inaccesible.

### Pruebas *in vitro* para definir sinergismo

Históricamente, las recomendaciones para el tratamiento combinado de infecciones enterocócicas se han basado en resultados de estudios *in vitro*. Inicialmente se probaron las combinaciones entre penicilina o aminopenicilina más estreptomina o gentamicina, con un efecto bactericida *in vitro*, el cual fue corroborado por datos clínicos<sup>16,17</sup>. Estos hallazgos llevaron a los médicos a emplear la combinación ampicilina-gentamicina (AG) como el estándar de atención para la EI<sup>14,18</sup>.

En 1983, 30 años después de instaurarse el tratamiento combinado, Mederski y cols., reportaron las primeras cepas HLAR (en inglés, *high-level aminoglycoside resistance*)<sup>19</sup>, lo que obligó a buscar nuevas opciones terapéuticas. En 1995 la combinación entre dos β-lactámicos surgió como una nueva alternativa. Mainardi y cols., describieron el efecto sinérgico *in vitro* de amoxicilina más cefotaxima contra *E. faecalis*<sup>20</sup>. Posteriores estudios *in vitro*, *in vivo* y algunos estudios clínicos observacionales, demostraron el efecto sinérgico de la combinación ampicilina-ceftriaxona (AC)<sup>21-23</sup>.

Aunque se han descrito varios métodos para medir el sinergismo *in vitro*, la técnica del tablero de ajedrez (en inglés, *checkerboard*) y las curvas de letalidad (en inglés *time-kill curves*) son las dos más utilizadas. El *checkerboard* (CB) mide el potencial de una combinación de antibacterianos para inhibir el crecimiento visible de un microorganismo. Los resultados se expresan en términos del índice de concentración inhibitoria fraccional (FIC index):

$$FIC\ index = FIC_A + FIC_B = \frac{A}{CIM_A} + \frac{B}{CIM_B} \quad (ec.1)$$

Donde A y B son las concentraciones inhibitorias mínimas (CIMs) de cada antibacteriano en combinación y CIM<sub>A</sub> y CIM<sub>B</sub> son las concentraciones inhibitorias mínimas de cada fármaco. Cuando el índice FIC es ≤ 0,5, la combinación es sinérgica, entre 1 y 4 es indiferente y > 4 es antagónica<sup>24,25</sup>.

Las *time-kill curves* (TKC) son un método dinámico que evalúa la actividad bactericida de la combinación de antibacterianos a lo largo del tiempo<sup>26</sup>. Si la combinación genera una reducción del recuento bacteriano mayor o igual a 2 log<sub>10</sub> ufc/mL que el fármaco individual más activo, se considera que hay sinergismo<sup>27</sup>.

Aunque estos métodos se utilizan frecuentemente, algunos autores han cuestionado la reproducibilidad de los datos y su potencial extrapolación<sup>28</sup>. Bayer y Morrison



emplearon ambos métodos para determinar el sinergismo de vancomicina más rifampicina en aislados clínicos de *Staphylococcus aureus* sensibles (SASM) y resistentes a metilicina (SARM). Por TKC, la combinación fue indiferente con 67% de las cepas, sinérgica contra 19% y antagonista contra 14%; mientras en el CB se observó antagonismo con 100% de los aislados. Los autores concluyeron que los resultados de las interacciones eran dispares y sugieren establecer comparaciones con modelos animales y ensayos clínicos controlados<sup>29</sup>. Con resultados similares, Rian y cols.<sup>30</sup>, estudiaron la variación de estos métodos *in vitro* contra *Enterococcus*, al combinar penicilina con seis aminoglucósidos. Por TKC se encontró sinergismo entre gentamicina y penicilina, mientras que con CB los resultados fueron muy variables.

La disparidad de resultados entre estos métodos puede explicarse por la ausencia de una metodología universalmente validada. La mayoría de los protocolos son adaptados o modificados a necesidad por los investigadores, lo cual dificulta la comparación de los resultados. Los cambios en los rangos de concentración de los fármacos son las modificaciones más comunes. Por ejemplo, algunos autores que emplean TKC utilizan concentraciones sub-CIM<sup>31</sup>, mientras que otros investigadores sostienen que las concentraciones a utilizar se deben basar en las concentraciones séricas de los fármacos, siendo este tipo de diseño el más usado<sup>32-34</sup>.

Los tiempos de incubación no están estandarizados en los estudios con TKC. El estudio de Whitman y cols., empleó un punto de corte de 18 h, con el que se pudo observar el sinergismo entre ciprofloxacina más rifampicina o gentamicina versus *E. faecium* resistente a vancomicina<sup>31</sup>. Por otro lado, Westh y cols., encontraron sinergismo entre tobramicina y tres  $\beta$ -lactámicos versus *E. faecalis* con solo cinco horas de incubación<sup>35</sup>.

Otras modificaciones no menos importantes incluyen la selección del medio de cultivo. La mayoría emplea caldo *Mueller Hinton* ajustado con cationes o de difusión cerebro corazón (BHI). Adicionalmente, algunos protocolos emplean medios suplementados con suero humano, de conejo o de rata, los que pueden cambiar el perfil sinérgico de una combinación<sup>36</sup>. Un estudio de ramoplanina más ampicilina versus *E. faecium* multi-resistente no evidenció sinergismo en las muestras con caldo *Mueller Hinton* ajustado con cationes, pero cuando se suplementó con 50% de suero humano, la combinación fue sinérgica<sup>37</sup>.

La Tabla 1 resume los estudios de sinergismo *in vitro*. La TKC fue la técnica más utilizada<sup>38,39</sup>. Las combinaciones más frecuentes fueron entre aminoglucósidos y aminopenicilinas<sup>35,40,41</sup>, seguida por las combinaciones de dos  $\beta$ -lactámicos contra cepas de *Enterococcus* con HLAR<sup>21</sup>, y finalmente entre glicopéptidos y aminoglucósidos contra cepas VRE<sup>32,42,43</sup>.

## Modelos experimentales de infección en animales

En 1899 MacCallum y Hastings, realizaron el primer modelo animal de infección por *Enterococcus*<sup>44</sup>. Desde entonces, estos modelos que utilizan principalmente conejos, ratas y ratones, han contribuido para superar la visión limitada y artificial de los modelos *in vitro*, y han permitido estudiar la patogénesis enterocócica en el contexto de la respuesta inmune, evaluar los efectos bacterianos en los diferentes órganos y comprender el entorno dinámico en el que interactúan el hospedero, el patógeno y los agentes antimicrobianos<sup>45,46</sup>.

Existen varios modelos experimentales de infección sistémica, que incluyen los mórvidos de infección del tracto urinario (ITU), peritonitis en ratas y ratones, pero quizá, el modelo más utilizado es el de endocarditis en ratas y conejos<sup>27,45,47,48</sup>. Este último se ha empleado principalmente en estudios de patogenicidad y respuesta al tratamiento antimicrobiano<sup>49,50</sup>.

Por ejemplo, Gavaldà y cols., evaluaron la actividad del esquema AC contra *E. faecalis* con HLAR en un modelo de endocarditis en conejos. Las vegetaciones cardiacas de los animales tratados con AC, tuvieron conteos bacterianos más bajos que los tratados con ampicilina sola<sup>21</sup>. En otro estudio de EI en conejos, compararon el tratamiento de AC versus AG contra *E. faecalis* con o sin HLAR. Concluyeron que las dos combinaciones eran comparables con relación a la reducción de los recuentos bacterianos, y proponen AC como una alternativa al esquema AG en pacientes con insuficiencia renal<sup>51</sup>. Otros resultados del efecto de combinaciones anti-enterocócicas en el modelo de EI, se resumen en la Tabla 2.

## Farmacodinamia antimicrobiana

Uno de los conceptos modernos más importantes de la farmacodinamia antimicrobiana es la relación de los parámetros farmacocinéticos (PK) con los farmacodinámicos (PD) y la estimación de los índices PK/PD, con los cuales se puede predecir la eficacia bactericida *in vivo*<sup>52,53</sup>. La información obtenida de estas integraciones a partir de modelos animales de infección, ha facilitado el diseño de regímenes de dosificación óptimos, con potencial para reducir la toxicidad y el desarrollo de resistencia<sup>52</sup>. Algunos estudios de pacientes en tratamiento antimicrobiano han aportado información de los índices PK/PD en humanos, con lo cual se ha confirmado que las magnitudes de los índices obtenidos en modelos animales y los encontrados en infecciones humanas son muy similares<sup>54,55</sup>.

Si bien el modelo de endocarditis ha contribuido al conocimiento de las interacciones farmacodinámicas de

Tabla 1. Estudios de sinergismo *in vitro* en combinaciones antienterocólicas

Autor (año)	Técnica	Especie/cepa de enterococo	Combinación	Resultado
Oill et al. (1981)	CB	<i>E. faecalis</i>	STR + (AMP o RIF)	Sinergismo
Fass et al. (1984)	TKC	<i>E. faecalis</i>	AMP + GNT	Sinergismo
Peterson et al. (1987)	CB	<i>E. faecalis</i>	AZL+ (CIP o AMK)	Indiferente
Sapico (1988)	TKC	<i>E. faecalis</i>	DAP + GNT	Indiferente
Duez et al. (1989)	CB	<i>E. faecalis</i>	DAP + AMP	Sinergismo
Westh et al. (1991)	TKC	<i>E. faecalis</i>	TOB + (AMP o AMX o PEN-G)	Sinergismo
Caron et al. (1991)	TKC	<i>E. faecium</i>	LoD-PEN + (VAN o GNT) HiD-PEN + (VAN o GNT)	Sinergismo LoD-PEN + VAN Sinergismo HiD-PEN + GNT
Ramos et al. (1992)	TKC	<i>E. faecalis</i> PEN, GNT (R)	AMP + GNT	Indiferente
Bauernfeind et al. (1992)	TKC	<i>E. faecalis</i> AMP (R)	TEC + (CIP o NTM)	Sinergismo
Caron et al. (1992)	TKC	<i>E. faecium</i> VRE	GNT + (DAP o TEC)	Sinergismo TEC + GNT
Whitman et al. (1993)	TKC	<i>E. faecium</i> VRE	CIP + (RIF o GNT)	Sinergismo
Hayden et al. (1994)	TKC	<i>E. faecium</i> VRE	VAN+ AMP	Indiferente
Gavaldà et al. (1996)	TKC	<i>E. faecalis</i>	AMP + GNT	Sinergismo
Mercier et al. (1997)	TKC	<i>E. faecium</i> VRE	ORV + GNT	Sinergismo
Zinner et al. (1998)	TKC	<i>E. faecium</i> VRE	SAM + TVX	Indiferente
Join-Lambert et al. (1998)	TKC	<i>E. faecalis</i> , HLAR- <i>E. faecalis</i>	AMX + CTX	Sinergismo
Baltch et al. (1998)	TKC	<i>E. faecium</i> VRE	ORV + AMP	Sinergismo
Gavaldà et al. (1999)	TKC	<i>E. faecalis</i> HLAR	AMP + CRO	Sinergismo
Messick et al (1999)	TKC	<i>E. faecium</i> MDR	CHL + Q/D + (VAN o AMP o GNT)	Indiferente
Mercier et al. (2002)	TKC	<i>E. faecium</i> VRE	TG + (VAN o GNT o RIF)	Indiferente
Aslangul et al. (2005)	TKC	<i>E. faecalis</i>	GNT + AMX	Sinergismo
Pontikis et al. (2013)	TKC	<i>E. faecium</i> LZ (R)	TG + GNT	Indiferente

TKC: *time-kill curves*; CB: checkerboard; TG: tigeciclina; GNT: gentamicina; VAN: vancomicina; RIF: rifampicina; CHL: cloranfenicol; Q/D: quinupristina/dalfopristina; CRO: ceftriaxona; ORV: oritavancina; CTX: cefotaxima; SAM: ampicilina/sulbactam; TVX: trovafloxacina; AZL: azlocilina; AMK: amikacina; CIP: ciprofloxacina; DAP: daptomicina; NTM: netilmicina; TEC: teicoplanina; LoD-PEN: penicilina en bajas concentraciones; HiD-PEN: penicilina en altas concentraciones; TOB: tobramicina; STR: estreptomina; VRE: *vancomycin-resistant Enterococcus*; HLAR: *high-level aminoglycoside resistance*; R: resistente; MDR: *multidrug resistant*.

combinaciones antibacterianas, también presenta grandes limitaciones metodológicas, que dificultan hacer una correcta predicción de la eficacia clínica del tratamiento<sup>56</sup>. Por ejemplo, no se cuantifica el tamaño del inóculo al momento del inicio de la infección. Este valor es de suma importancia para determinar el crecimiento bacteriano, el efecto del inóculo y el efecto post-antibiótico para algunos fármacos. Adicionalmente, con este modelo no se obtienen curvas farmacodinámicas dosis-respuesta, y por lo tanto, no se pueden estimar los índices PK/PD necesarios para determinar la eficacia bactericida *in vivo*. Por otro lado, las tasas bajas de multiplicación en las vegetaciones del microorganismo ( $\sim 1 \log_{10}$  ufc/g), puede

alterar la PD de algunos antibacterianos<sup>57,58</sup>; y finalmente estos modelos presentan varianzas grandes que reducen la potencia estadística<sup>56</sup>.

En un estudio, reciente optimizamos el modelo de ratón neutropénico para *Enterococcus*. Se ajustaron las condiciones *in vitro* de preparación del inóculo, lo cual mejoró el crecimiento bacteriano *in vivo*  $> 2 \log_{10}$  ufc/g en 24 h y se lograron estimaciones significativas de los parámetros PK/PD para vancomicina (VAN), ampicilina-sulbactam (SAM) y piperacilina-tazobactam (TZP), constituyéndose como el primer estudio *in vivo* en definir la magnitud del índice *fAUC/MIC* de VAN contra *E. faecium*<sup>59</sup>.



Tabla 2. Modelo de endocarditis infecciosa en combinaciones anti-enterocólicas

Referencia (año)	Especie/cepa de enterococo	Combinación	Modelo	Reducción de los recuentos bacterianos (log <sub>10</sub> ufc/g)
Caron et al. (1991)	<i>E. faecium</i> HLAR y Penicilina (R)	PEN + (VAN o GNT o VAN + GNT)	El en conejo. Tratamiento por 5 días	LoD-PEN (1,6), HiD-PEN (2,1), VAN (1,2), GNT (0,7), LoD-PEN + VAN + GNT (4,1), HiD-PEN + VAN + GNT (4,8)
Whitman et al. (1993)	<i>E. faecium</i> VRE	CIP+ (RIF o GNT o RIF + GNT)	El en rata. Tratamiento por 5 días	GNT (0), CIP (1,2), RIF (5,4), CIP + GNT (3,7), CIP + RIF (5,9), Cl + GNT + RIF (6,3)
Gavaldà et al. (1996)	<i>E. faecalis</i>	AMP + GNT	El en conejo. Tratamiento por 5 días	AMP (3,53), AMP + GNT (5,28)
Join-Lambert et al. (1998)	<i>E. faecalis</i> y <i>E. faecalis</i> HLAR	AMX + CTX	El en conejo. Tratamiento por 5 días	<i>E. faecalis</i> CTX (0,2), AMX (2,2), AMX + CTX (2) <i>E. faecalis</i> HLRA AMX (3,6), AMX + CTX (2,8)
Gavaldà et al. (1999)	<i>E. faecalis</i> HLAR	AMP + CRO	El en conejo. Tratamiento por 3 días	AMP (4,5), AMP + CRO (7,4)
Kak et al. (2000)	<i>E. faecalis</i> HLAR	AMP + (GNT o ARK)	El en conejo. Tratamiento por 5 días	AMP (3,15), AMP + GNT(3,46), AM + ARK (4,62)
Gavaldà et al. (2003)	<i>E. faecalis</i>	AMP + ( CRO o GNT o GNT + CRO)	El en conejos. Tratamiento por 3 días	AMP (2,3), AMP + GNT (3,5), AMP + CRO (4) AMP + CRO + GNT (4,1)

GNT: gentamicina; VAN: vancomicina; RIF: rifampicina; CRO: ceftriaxona; ARK: arbekacina; CTX: cefotaxima; CIP: ciprofloxacina; LoD-PEN: penicilina a bajas concentraciones; HiD-PEN: penicilina a altas concentraciones; VRE: *vancomycin-resistant Enterococcus*; HLAR: *high-level aminoglycoside resistance*; EI: endocarditis infecciosa.

### ¿Son comparables los resultados de los modelos de sinergismo *in vitro* e *in vivo*?

Algunos de los datos reportados de estudios de combinaciones *in vitro* son discordantes con los hallazgos obtenidos en los modelos animales de infección. Por ejemplo, en las TKC y otras técnicas *in vitro* el inóculo bacteriano es expuesto a una concentración fija de antibacterianos durante un período de incubación<sup>60</sup>. Por otro lado, en los modelos *in vivo*, las concentraciones de los antibacterianos están cambiando continuamente en suero y en el tejido infectado. De esta manera, las bacterias en el sitio de infección están expuestas a concentraciones oscilantes de los fármacos. Finalmente, la definición de sinergismo en los modelos *in vivo* no es clara y no se ha establecido cuál es el punto de corte que permita definir si una combinación antibacteriana es sinérgica o no.

La Tabla 3 compara los resultados obtenidos de modelos *in vivo* e *in vitro* en combinaciones anti-enterocólicas. Whitman y cols.<sup>31</sup>, estudiaron el efecto de la combinación entre ciprofloxacina (CIP) más rifampicina (RIF) o gentamicina (GNT) contra *E. faecium* multi-resistente. Aunque por TKC las dos combinaciones fueron sinérgicas bactericidas (reducción de los recuentos bacterianos  $\geq 8 \log_{10}$  ufc/mL), con el modelo de EI en rata, la disminución en los recuentos bacterianos de CIP + RIF y CIP + GNT en comparación con CIP fueron tan solo de 0,8 y 2,5  $\log_{10}$  ufc/g, respectivamente. En otro estudio, Gavaldà

y cols.<sup>51</sup>, evaluaron la eficacia *in vivo* e *in vitro* de los esquemas AC o AG versus *E. faecalis*. Por TKC todas las combinaciones fueron sinérgicas, mientras que, con el modelo de endocarditis, la disminución en los recuentos bacterianos de AG, AC y AGC (combinación triple ampicilina, gentamicina y ceftriaxona) en comparación con ampicilina en monoterapia fueron de 1,2-1,7 y 1,8  $\log_{10}$  ufc/g, respectivamente. Sin embargo, los autores concluyen que hay evidencia de sinergismo *in vitro* e *in vivo* en todas las combinaciones probadas.

### Estudios clínicos

Los estudios clínicos de infecciones por *Enterococcus* son limitados y se han restringido a la evaluación del esquema AC en EI contra cepas de *E. faecalis* HLAR no-HLAR (Tabla 4). En el año 2007, Gavaldà y cols.<sup>22</sup>, evaluaron la efectividad y seguridad del esquema AC en 21 pacientes con EI por *E. faecalis* HLAR y en 22 pacientes no-HLAR, en un ensayo clínico abierto multicéntrico. Concluyeron que el esquema AC extiende las opciones terapéuticas para el tratamiento de la EI por *E. faecalis* HLAR y No-HLAR sensibles a penicilina. Además, proponen este esquema como una alternativa de tratamiento para pacientes con riesgo de nefrotoxicidad infectados con cepas no-HLAR.

En 2013, Fernández-Hidalgo y cols.<sup>61</sup>, realizaron un es-


**Tabla 3. Comparación modelos *in vivo* e *in vitro* de combinaciones anti-enterocólicas**

Referencia (año)	Especie/cepa de enterococo	Reducción de los recuentos bacterianos (log <sub>10</sub> ufc) de la combinación en comparación con el fármaco único más activo	
		Modelo <i>in vivo</i> de EI	TKC
Whitman et al. (1993)	<i>E. faecium</i> VRE	CIP + RIF 0,8 log <sub>10</sub> ufc/g CIP + GNT 2,5 log <sub>10</sub> ufc/g CIP + GNT + RIF 1,2 log <sub>10</sub> ufc/g	CIP + RIF ≥ 8 log <sub>10</sub> ufc/mL CIP+GNT ≥ 8 log <sub>10</sub> ufc/mL CIP + GNT + RIF ≥ 8log <sub>10</sub> ufc/mL
Gavaldà et al. (1996)	<i>E. faecalis</i>	AMP + GNT 1,75 log <sub>10</sub> ufc/g	AMP + GNT 3 log <sub>10</sub> ufc/mL
Join-Lambert et al. (1998)	<i>E. faecalis</i> y <i>E. faecalis</i> HLAR	<i>E. faecalis</i> AMX + CTX 0,2 log <sub>10</sub> CFU/g <i>E. faecalis</i> HLAR AMX + CTX 0,8 log <sub>10</sub> ufc/g	<i>E. faecalis</i> AMX + CTX 6 log <sub>10</sub> ufc/mL <i>E. faecalis</i> HLAR AMX + CTX 6,5 log <sub>10</sub> ufc/mL
Gavaldà et al. (1999)	<i>E. faecalis</i> HLAR	AMP + CRO 2,6 log <sub>10</sub> ufc/g	AMP + CRO 3,4 log <sub>10</sub> ufc/mL
Gavaldà et al. (2003)	<i>E. faecalis</i>	AMP + GNT 1,2 log <sub>10</sub> ufc/g AMP + CRO 1,7 log <sub>10</sub> ufc/g	AMP + GNT ≥ 3 log <sub>10</sub> ufc/mL AMP + CRO ≥ 3 log <sub>10</sub> ufc/mL

GNT: gentamicina; RIF: rifampicina; CRO: ceftriaxona; CTX: cefotaxima; CIP: ciprofloxacina; AMP: ampicilina; AMX: amoxicilina; VRE: *vancomycin resistant Enterococcus*; HLAR: *high-level aminoglycoside resistance*; EI: endocarditis infecciosa; ufc, unidades formadoras de colonia; TKC: *time kill curves*.

**Tabla 4. Ensayos clínicos para el tratamiento combinado de endocarditis infecciosa por *Enterococcus***

Autor (año)	Esquema	Diseño	Sujetos	Resultados
Gavaldà et al. (2007)	AMP 2 g q4h más CRO 2 g q12h	Estudio observacional, abierto y multicéntrico	43 pacientes con EI por <i>E. faecalis</i> de 13 centros de salud de España (21 HLAR y 22 no-HLAR)	Cura clínica de 67,4% 28,6% del grupo de pacientes HLAR y 36,4 % del grupo no-HLAR, murieron durante el tratamiento (p > 0,05) 95,3% de los pacientes no reportaron eventos adversos
Fernández et al. (2013)	AMP 2 g q4h más CRO 2 g q12h (n = 159)  AMP 2 g q4h más GNT 3 mg/kg/día (n = 87)	Estudio observacional, abierto y multicéntrico	246 pacientes con EI por <i>E. faecalis</i>	AC vs AG: Sin diferencias en la mortalidad durante el tratamiento AG: Aumento de eventos adversos que requirió la suspensión del tratamiento (25% vs 1%, p < 0,001)
Ceron et al. (2014)	DAP ≥ 6 mg/kg/día (n = 6) AMP 2 g q6h más CRO 2 g q12h (n = 21) AMP 2 g q6h o VAN 1 g q12h más GNT 1 mg/kg q8h (n = 5)	Estudio descriptivo retrospectivo que compara la eficacia de DAP vs AMP o AMP + CRO o VAN + GNT	32 pacientes con EI por <i>E. faecium</i>	Pacientes con DAP tuvieron bacteriemias más prolongadas (6 días vs 1 día p = 0,01) Pacientes con DAP presentaron una necesidad mayor de cambio de terapia debido a complicaciones (66,7% vs 0%, p < 0,01).

GNT: gentamicina; CRO: ceftriaxona; VAN: vancomicina; DAP: daptomicina; AMP: ampicilina; EI: endocarditis infecciosa; AC: tratamiento combinado de ampicilina más ceftriaxona; AG: tratamiento combinado de ampicilina más gentamicina; HLAR: *high-level aminoglycoside resistance*.

tudio multicéntrico no aleatorizado, de cohortes, en el cual compararon la seguridad y eficacia de AC y AG en 246 pacientes con EI causada por *E. faecalis* (159 sujetos en el grupo AC y 87 en el grupo AG). Los autores concluyeron que las dos combinaciones eran igualmente efectivas. Sin embargo, los pacientes tratados con AG tuvieron tasas más altas de insuficiencia renal que requirieron la suspensión del tratamiento. Con los resultados de estos dos estudios clínicos, la Guía Americana de EI en Adultos de 2015 recomienda el tratamiento dual con β-lactámicos

como una opción de tratamiento para las infecciones por HLAR y una alternativa razonable a las combinaciones con aminoglucósidos en infecciones por *E. faecalis* (Clase IIa; nivel de evidencia de recomendación B)<sup>15,62</sup>.

## Conclusiones

Desde hace más de cinco décadas, la evidencia para el tratamiento combinado de infecciones graves entero-



cólicas se ha obtenido principalmente de resultados de estudios *in vitro*, modelos de endocarditis en conejos y unos pocos estudios clínicos. Los hallazgos derivados de estas investigaciones dieron origen a los esquemas AG como tratamiento estándar para la EI, y la combinación dual con  $\beta$ -lactámicos (es decir, AC), para infecciones con cepas HLAR y para la disminución del riesgo de toxicidad renal por aminoglucósidos. Aunque con el uso de estos esquemas se han logrado mejores tasas de éxito terapéutico, no se ha esclarecido cuál es el tratamiento óptimo contra *Enterococcus*. Por lo tanto, existe una necesidad crítica de investigar, además de mejores esquemas de tratamiento, nuevos modelos experimentales *in vivo* que permitan predecir la eficacia clínica de las combinaciones.

La evidencia del efecto *in vivo* del tratamiento anti-enterocócico en monoterapia y en combinación, deriva principalmente del modelo de EI en conejos, el que puede ser diferente al obtenido en otras infecciones graves no endocárdicas. Por lo tanto, se requieren modelos animales validados que provean información fiable sobre la respuesta terapéutica en infecciones sistémicas graves y que los resultados sean extrapolables a humanos. El modelo de ratón neutropénico optimizado para *Enterococcus* obtuvo estimaciones significativas de los parámetros PK/PD en monoterapia, constituyéndose como una herramienta promisoriosa para evaluar el efecto de las combinaciones anti-enterocócicas.

## Resumen

Durante las últimas décadas, especies del género *Enterococcus* han emergido como importantes agentes etiológicos de bacteriemia, osteomielitis, endocarditis e infecciones de tejidos blandos. La combinación de antibacterianos ha sido la estrategia terapéutica más utilizada para dichas infecciones, buscando un potencial efecto sinérgico bactericida. Sin embargo, aparte de los modelos *in vitro* e *in vivo*, la utilidad clínica del tratamiento combinado genera controversia, especialmente en infecciones sistémicas no endocárdicas. Aunque las combinaciones entre  $\beta$ -lactámicos y aminoglucósidos o el tratamiento dual con  $\beta$ -lactámicos, han mejorado las tasas de curación de la endocarditis, aún no se ha esclarecido cuál es su tratamiento óptimo o si estas combinaciones también son útiles en otro tipo de infecciones graves sistémicas. El propósito de esta revisión es analizar y resumir los resultados obtenidos de diferentes modelos experimentales de combinaciones anti-enterocócicas y de los estudios clínicos disponibles en PubMed/Medline, a fin de evaluar mejor la evidencia que soporta la utilización de estas combinaciones. En conclusión, la información disponible es escasa, e indica la necesidad de mejores modelos *in vivo* y estudios clínicos que permitan comprobar la potencial actividad sinérgica de las combinaciones anti-enterocócicas.

## Referencias bibliográficas

- Centers for Disease Control and Prevention. Antibiotic resistance threats in the United States, 2013: Centres for Disease Control and Prevention, US Department of Health and Human Services. URL: <https://www.cdc.gov/drugresistance/threat-report-2013/pdf/ar-threats-2013-508.pdf>.
- Arias C A, Murray B E. The rise of the *Enterococcus*: Beyond vancomycin resistance. *Nat Rev Microbiol* 2012;10 (4):266-78. doi:10.1038/nrmicro2761.
- Sievert D M, Ricks P, Edwards J R, Schneider M, Patel J, Srinivasan A, et al. Antimicrobial-resistant pathogens associated with healthcare-associated infections summary of data reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2009-2010. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2013; 34 (01): 1-14. doi:10.1086/668770.
- Zuluaga A F. Etiologic diagnosis of chronic osteomyelitis. *Arch Intern Med* 2006;166 (1): 95-100. doi:10.1001/archinte.166.1.95.
- Gilmore MS. MICROBIOLOGY: The thin line between gut commensal and pathogen. *Science* (80- ). 2003; 299 (5615):1999-2002. doi:10.1126/science.1083534.
- Miro J M, Pericas J M, del Río A. A New Era for treating *Enterococcus faecalis* endocarditis: ampicillin plus short-course gentamicin or ampicillin plus ceftriaxone: that is the question! *Circulation* 2013; 127 (17): 1763-6. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.113.002431.
- Dupre I. Incidence of virulence determinants in clinical *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis* isolates collected in Sardinia (Italy). *J Med Microbiol* 2003; 52 (6):491-8.
- Rosa R, Creti R, Venditti M, D'Amelio R, Arciola C R, Montanaro L, et al. Relationship between biofilm formation, the enterococcal surface protein (Esp) and gelatinase in clinical isolates of *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium*. *FEMS Microbiol Lett*. 2006; 256 (1): 145-50. -150. doi:10.1111/j.1574-6968.2006.00112.x.
- Soares R O, Fedi A C, Reiter K C, Caierão J, D'Azevedo P A. Correlation between biofilm formation and *gelE*, *esp*, and *agg* genes in *Enterococcus* spp. clinical isolates. *Virulence*. 2014;5 (5): 634-7. doi:10.4161/viru.28998.
- Kristich C J, Rice L B, Arias C A. Enterococcal Infection-Treatment and Antibiotic Resistance.; 2014. In: Gilmore MS, Clewell DB, Ike Y, Shankar N, editors. *Enterococci: From Commensals to Leading Causes of Drug Resistant Infection* [Internet]. Boston: Massachusetts Eye and Ear Infirmary. 2014 Feb 6.PMID: 24649502
- Arias C A, Contreras G A, Murray B E. Management of multi-drug resistant enterococcal infections. *Clin Microbiol Infect*. 2010; 16 (6): 555-62. doi:10.1111/j.1198-743X.2010.03214.x.
- Hunter T H. Use of streptomycin in the treatment of bacterial endocarditis. *Am J Med* 1947; 2 (5): 436-42. doi:10.1016/0002-9343(47)90088-0.
- Hunter T H. Bacterial endocarditis. *Am Heart J* 1951; 42 (3): 472-82. doi:10.1016/0002-8703(51)90144-5.
- Geraci J E, Martin W J. Antibiotic therapy of bacterial endocarditis. VI. Subacute enterococcal endocarditis; clinical, pathologic and therapeutic consideration of 33 cases. *Circulation* 1954; 10 (2): 173-94. doi: 10.1161/01.cir.10.2.173.
- Baddour L M, Wilson W R, Bayer A S, Fowler V G, Tleyjeh I M, Rybak M J, et al. Infective endocarditis in adults: diagnosis, antimicrobial therapy, and management of complications. *Circulation* 2015; 132 (15): 1435-86. doi: 10.1161/CIR.0000000000000296.



- 16.- Jewetz E, Gunnison J B, Bruff J B, Coleman V R. Studies on antibiotic synergism and antagonism. Synergism among seven antibiotics against various bacteria in vitro. *J Bacteriol* 1952; 64 (1): 29-39. PMID:14946096.
- 17.- Robbins W C, Tompssett R. Treatment of enterococcal endocarditis and bacteremia. *Am J Med* 1951; 10(3): 278-99. -doi:10.1016/0002-9343(51)90273-2.
- 18.- Habib G, Lancellotti P, Antunes M J, Bongiorno M G, Casalta J-P, Del Zotti F, et al. 2015 ESC Guidelines for the management of infective endocarditis. *Eur Heart J* 2015; 36 (44): 3075-128. Available from: <https://academic.oup.com/eurheartj/article-lookup/doi/-3128>. doi:10.1093/eurheartj/ehv319.
- 19.- Mederski-Samoraj B D, Murray B E. High-level resistance to gentamicin in clinical isolates of enterococci. *J Infect Dis* 1983;147(4):751-7. doi: 10.1093/infdis/147.4.751.
- 20.- Mainardi J L, Gutmann L, Acar J F, Goldstein F W. Synergistic effect of amoxicillin and cefotaxime against *Enterococcus faecalis*. *Antimicrob Agents Chemother* 1995; 39 (9): 1984-7. doi: 10.1128/aac.39.9.1984.
- 21.- Gavaldà J, Torres C, Tenorio C, López P, Zaragoza M, Capdevila JA, et al. Efficacy of ampicillin plus ceftriaxone in treatment of experimental endocarditis due to *Enterococcus faecalis* strains highly resistant to aminoglycosides. *Antimicrob Agents Chemother* 1999; 43 (3): 639-46. doi:10.1128/AAC.43.3.639.
- 22.- Gavaldà J, Len O, Miró JM, Muñoz P, Montejo M, Alarcón A, et al. Brief communication: treatment of *Enterococcus faecalis* endocarditis with ampicillin plus ceftriaxone. *Ann Intern Med* 2007; 146 (8): 574-9. doi: 10.7326/0003-4819-146-8-200704170-00008.
- 23.- Pericas J M, Cervera C, del Río A, Moreno A, García de la María C, Almela M, et al. Changes in the treatment of *Enterococcus faecalis* infective endocarditis in Spain in the last 15 years: from ampicillin plus gentamicin to ampicillin plus ceftriaxone. *Clin Microbiol Infect* 2014; 20 (12): O1075-83. doi: 10.1111/1469-0691.12756.
- 24.- Duez J M, Péchinot A, Siébor E, Cordin X, Kazmierczak A. Bactericidal activity of daptomycin and vancomycin alone or in combination with tobramycin, netilmicin or ampicillin against enterococcus. *Pathol Biol (Paris)* 1989; 37 (4): 263-8. PMID: 2543946.
- 25.- Yamashita K, Kawabe H, Mitsuhashi S. Synergistic activities of formicin A and beta-lactam antibiotics against *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother*. 1981; 20 (1): 33-7. doi:10.1128/AAC.20.1.33.
- 26.- Pillai S K, Moellering R C E G. Antimicrobial Combinations. In: Lorian, V. *Antibiotics in Laboratory Medicine*. 5th ed. Philadelphia: The Lippincott Williams & Wilkins Co.; 2005; 365-440 p.
- 27.- Leone S, Noviello S, Esposito S. Combination antibiotic therapy for the treatment of infective endocarditis due to enterococci. *Infection*. 2016; 44 (3): 273-81. doi: 10.1007/s15010-015-0836-0.
- 28.- Norden C W, Wentzel H, Keleti E. Comparison of techniques for measurement of in vitro antibiotic synergism. *J Infect Dis*. 1979;140(4):629-33. doi:10.1093/infdis/140.4.629.
- 29.- Bayer A S, Morrison J O. Disparity between timed-kill and checkerboard methods for determination of in vitro bactericidal interactions of vancomycin plus rifampin versus methicillin-susceptible and -resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 1984; 26 (2): 220-3. doi:10.1128/AAC.26.2.220.
- 30.- Ryan R W, Kwasnik I, Tilton R C. Methodological variation in antibiotic synergy tests against enterococci. *J Clin Microbiol* 1981; 13 (1):73-5. PMID: 6780605.
- 31.- Whitman M S, Pitsakis P G, Zausner A, Livornese L L, Osborne A J, Johnson C C, et al. Antibiotic treatment of experimental endocarditis due to vancomycin- and ampicillin-resistant *Enterococcus faecium*. *Antimicrob Agents Chemother* 1993; 37 (10): 2069-73. PMID: 8257125.
- 32.- Bauernfeind A. Bactericidal activity of antibiotics alone and in combination against *Enterococcus faecalis* in a pharmacodynamic model. *Clin Infect Dis* 1992; 15 (3): 481-5. doi: 10.1093/clind/15.3.481.
- 33.- Messick C R, Rodvold K A, Pendland S L. Modified time-kill assay against multidrug-resistant *Enterococcus faecium* with novel antimicrobial combinations. *J Antimicrob Chemother* 1999; 4 (6): 831-4. doi: 10.1093/jac/44.6.831.
- 34.- Zinner S H, Gilbert D, Dudley M N. Activity of trovafloxacin (with or without ampicillin-sulbactam) against enterococci in an in vitro dynamic model of infection. *Antimicrob Agents Chemother* 1998; 42 (1): 72-7. doi: 10.1128/AAC.42.1.72.
- 35.- Westh H, Frimodt-Møller N, Gutschik E. Bactericidal effect of penicillin, ampicillin, and amoxicillin alone and in combination with tobramycin against *Enterococcus faecalis* as determined by kill-kinetic studies. *Infection*. 1991; 19 (3): 170-3. PMID: 1909688.
- 36.- Balth A L, Smith R P, Ritz W J, Bopp L H. Comparison of inhibitory and bactericidal activities and postantibiotic effects of LY333328 and ampicillin used singly and in combination against vancomycin-resistant *Enterococcus faecium*. *Antimicrob Agents Chemother* 1998; 42 (10): 25648 PMID: 9756756.
- 37.- Mobarakai N, Quale J M, Landman D. Bactericidal activities of peptide antibiotics against multidrug-resistant *Enterococcus faecium*. *Antimicrob Agents Chemother* 1994; 38 (2): 385-7. PMID: 8192473.
- 38.- Hayden M K, Koenig G I, Trenholme G M. Bactericidal activities of antibiotics against vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* blood isolates and synergistic activities of combinations. *Antimicrob Agents Chemother*. 1994; 38 (6): 1225-9. PMID: 8092818.
- 39.- Mercier R-C, Kennedy C, Meadows C. Antimicrobial activity of tigecycline (GAR-936) against *Enterococcus faecium* and *Staphylococcus aureus* used alone and in combination. *Pharmacotherapy*. 2002; 22 (12): 1517-23. doi: 10.1592/phco.22.12.1517.34117.
- 40.- Fass R J, Wright C A. Comparative efficacies of mezlocillin and ampicillin alone or in combination with gentamicin in the treatment of *Streptococcus faecalis* endocarditis in rabbits. *Antimicrob Agents Chemother* 1984; 5 (4): 408-10. PMID: 6428306.
- 41.- Oill P A, Kalmanson G M, Guze L B. Rifampin, ampicillin, streptomycin, and their combinations in the treatment of enterococcal pyelonephritis in rats. *Antimicrob Agents Chemother* 1981; 20 (4): 491-2. PMID: 6805418.
- 42.- Caron F, Kitzis M D, Gutmann L, Cremieux A C, Maziere B, Vallois J M, et al. Daptomycin or teicoplanin in combination with gentamicin for treatment of experimental endocarditis due to a highly glycopeptide-resistant isolate of *Enterococcus faecium*. *Antimicrob Agents Chemother* 1992; 36 (12): 2611-6. doi: 10.1128/AAC.36.12.2611.
- 43.- Mercier R C, Houlihan H H, Rybak M J. Pharmacodynamic evaluation of a new glycopeptide, LY333328, and in vitro activity against *Staphylococcus aureus* and *Enterococcus faecium*. *Antimicrob Agents Chemother* 1997; 41 (6): 1307-12. PMID: 9174189.
- 44.- Maccallum W G, Hastings T W. A case of acute endocarditis caused by *Micrococcus zymogenes* (nov. Spec.), with a description of the microorganism. *J Exp Med*. 1899; 4 (5-6): 521-34. doi: 10.1084/jem.4.5-6.521.
- 45.- Garsin D A, Frank K L, Silanpää J, Ausubel F M, Hartke A, Shankar N, et al. Pathogenesis and models of enterococcal infection. In: Gilmore MS, Clewell DB, Ike Y, Shankar N, editors. *Enterococci: From Commensals to Leading Causes of Drug Resistant Infection* [Internet]. Boston: Massachusetts Eye and Ear Infirmary; 2014 Feb 7. 2014. PMID: 24649512.
- 46.- Renneberg J. Definitions of antibacterial interactions in animal infection models. *J Antimicrob Chemother* 1993; 31 (suppl D): 167-75. doi:10.1093/jac/31.suppl\_D.167.
- 47.- Ramos M C, Grayson M L, Eliopoulos G



- M, Bayer A S. Comparison of daptomycin, vancomycin, and ampicillin-gentamicin for treatment of experimental endocarditis caused by penicillin-resistant enterococci. *Antimicrob Agents Chemother* 1992; 36 (9): 1864-9. PMID: 1329632.
- 48.- Sapico F L, Ginunas V J, Canawati H N, Montgomerie J Z. LY146032, alone and in combination with gentamicin, for the treatment of enterococcal pyelonephritis in the rat model. *Antimicrob Agents Chemother* 1988; 32 (1): 81-3. doi:10.1128/AAC.32.1.81.
- 49.- Marangos M. Influence of gentamicin dosing interval on the efficacy of penicillin-containing regimens in experimental *Enterococcus faecalis* endocarditis. *J Antimicrob Chemother* 1997; 39 (4): 519- 22. doi:10.1093/jac/39.4.519.
- 50.- Pontikis K, Pefanis A, Tsaganos T, Tzepe I-M, Carrer D-P, Giamarellou H. Efficacy of tigecycline alone and in combination with gentamicin in the treatment of experimental endocarditis due to linezolid-resistant *Enterococcus faecium*. *Antimicrob Agents Chemother* 2013; 57 (7): 3392-4. doi:10.1128/AAC.00646-13.
- 51.- Gavalda J. Efficacy of ampicillin combined with ceftriaxone and gentamicin in the treatment of experimental endocarditis due to *Enterococcus faecalis* with no high-level resistance to aminoglycosides. *J Antimicrob Chemother* 2003; 52 (3): 514-7. doi:10.1093/jac/dkg360.
- 52.- González J M, Rodríguez CA, Agudelo M, Zuluaga A F, Vesga O. Antifungal pharmacodynamics: Latin America's perspective. *Brazilian J Infect Dis* 2017; 21(1): 79-87. doi:10.1016/j.bjid.2016.09.009.
- 53.- Craig W A. Pharmacokinetic/pharmacodynamic parameters: rationale for antibacterial dosing of mice and men. *Clin Infect Dis* 1998; 26 (1):1-12; <https://doi.org/10.1086/516284>.
- 54.- Zuluaga A F, OV. Aportes del modelo en ratón neutropénico de infección del muslo al conocimiento sobre la farmacología de antibióticos. *Infectio* 2005; 9. (2): 1-159. URL: [http:// www.revistainfectio.org/index.php/infectio/article/download/202/226](http://www.revistainfectio.org/index.php/infectio/article/download/202/226)
- 55.- Ambrose P G, Bhavnani S M, Rubino C M, Louie A, Gumbo T, Forrest A, et al. Antimicrobial resistance: Pharmacokinetics-pharmacodynamics of antimicrobial therapy: it's not just for mice anymore. *Clin Infect Dis* 2007; 44 (1): 79-86. doi:10.1086/510079.
- 56.- Zuluaga A F, Rodríguez C A, Agudelo M, Vesga O. About the validation of animal models to study the pharmacodynamics of generic antimicrobials. *Clin Infect Dis* 2014; 59 (3): 459-61. doi:10.1093/cid/ciu306.
- 57.- Caron F, Carbon C, Gutmann L. Triple-combination penicillin-vancomycin-gentamicin for experimental endocarditis caused by a moderately penicillin- and highly glycopeptide resistant isolate of *Enterococcus faecium*. *J Infect Dis* 1991; 164 (5): 888-93. doi:10.1093/infdis/164.5.888.
- 58.- Kak V, Donabedian S M, Zervos M J, Kariyama R, Kumon H, Chow J W. Efficacy of ampicillin plus arbekacin in experimental rabbit endocarditis caused by an *Enterococcus faecalis* strain with high-level gentamicin resistance. *Antimicrob Agents Chemother*. 2000; 44 (9): 2545-6. doi:10.1128/AAC.44.9.2545-2546.2000.
- 59.- Rodríguez C A, Agudelo M, González J M, Vesga O, Zuluaga A F. An optimized mouse thigh infection model for Enterococci and its impact on antimicrobial pharmacodynamics. *Antimicrob Agents Chemother*. 2015; 59 (1): 233-8. doi:10.1128/AAC.02352-13.
- 60.- Berenbaum M C. Correlations between methods for measurement of synergy. *J Infect Dis* 1980; 142 (3): 476-80. doi: 10.1093/infdis/142.3.476.
- 61.- Fernández-Hidalgo N, Almirante B, Gavalda J, Gurgui M, Peña C, de Alarcón A, et al. Ampicillin plus ceftriaxone is as effective as ampicillin plus gentamicin for treating *enterococcus faecalis* infective endocarditis. *Clin Infect Dis* 2013; 56 (9): 1261-8. doi:10.1093/cid/cit052.
- 62.- Olaison L, Schadewitz K, Swedish Society of Infectious Diseases Quality Assurance Study Group for Endocarditis. Enterococcal endocarditis in Sweden, 1995-1999: can shorter therapy with aminoglycosides be used? *Clin Infect Dis* 2002; 34 (2): 159-66. doi:10.1086/338233.