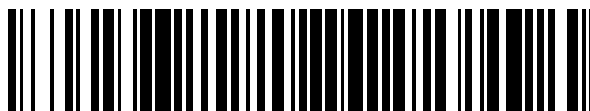


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 718 535**

51 Int. Cl.:

A61K 31/546 (2006.01)

A61P 31/04 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.08.2009** **E 14196405 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.02.2019** **EP 2889034**

54 Título: **Composición que comprende ceftarolina y tobramicina**

30 Prioridad:

28.08.2008 US 92497 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

02.07.2019

73 Titular/es:

**PFIZER ANTI-INFECTIVES AB (100.0%)
Vetenskapsvägen 10
SE-191 90 Sollentuna, SE**

72 Inventor/es:

BIEK, DONALD

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 718 535 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Composición que comprende ceftarolina y tobramicina

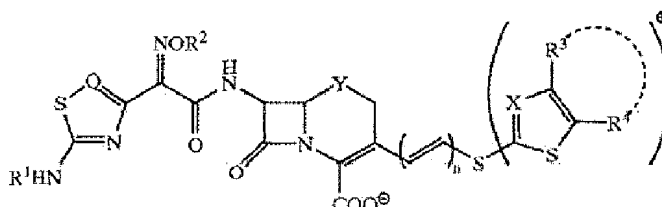
Campo de la invención

La presente invención se refiere a composiciones que comprenden ceftarolina fosamil, o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable de la misma, en combinación con tobramicina, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.

Antecedentes de la invención

La ceftarolina es una nueva cefalosporina precursora con un amplio espectro de actividad contra patógenos Gram-negativos y Gram-positivos adquiridos en la comunidad y adquiridos en el hospital clínicamente importantes, y *Streptococcus pneumoniae* resistente a la metilicina y *Streptococcus pneumoniae* resistente a múltiples fármacos.

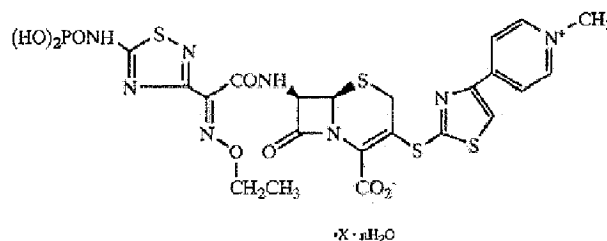
La patente de EE.UU. n.º 6.417.175 desvela compuestos que tienen excelentes actividades antibacterianas para un amplio intervalo de bacterias Gram-positivas y Gram-negativas. Estos compuestos están representados por la fórmula general:



donde R¹-R⁴, Q, X, Y y n son como se definen en el mismo.

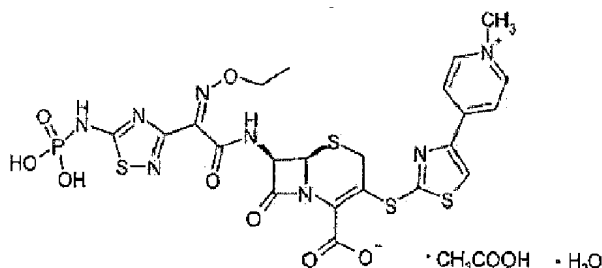
La patente de EE.UU. n.º 6.417.175 desvela procedimientos de preparación de los compuestos, y desvela genéricamente formulaciones de los compuestos, tales como soluciones acuosas y salinas para inyección. Uno de dichos compuestos es 7β-[2(Z)-etoxiimino-2-(5-fosfonoamino-1,2,4-tiadiazol-3-il)acetamido]-3-[4-(1-metil-4-piridinio)-2-tiazolil]-3-cefem-4-carboxilato.

La patente de EE.UU. n.º 6.906.055 desvela un género químico que incluye compuestos de fórmula:



La ceftarolina fosamil es un antibiótico estéril y sintético del profármaco precursor cefalosporina. El profármaco hidrosoluble de *N*-fosfonoamino se convierte rápidamente en la ceftarolina bioactiva, que ha demostrado presentar actividad antibacteriana.

La ceftarolina fosamil se conoce como (6*R*,7*R*)-7-[(2*Z*)-2-(etoxiimino)-2-[5-(fosfonoamino)-1,2,4-tiadiazol-3-il]acetamido]-3-[[4-(1-metilpiridin-1-ilo-4-il)-1,3-tiazol-2-il]sulfanil]-8-oxo-5-tia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-2-carboxilato. La ceftarolina fosamil puede ser una forma hidratada de ácido acético.



tratamiento de infecciones bacterianas.

Sigue existiendo la necesidad en la técnica de nuevos y mejores composiciones y procedimientos dirigidos al tratamiento de infecciones bacterianas.

- 5 Se ha encontrado sorprendente e inesperadamente que la ceftarolina en combinación con diversos agentes antibacterianos actúa sinérgicamente contra cepas bacterianas. Además, la combinación de la ceftarolina y los agentes antibacterianos no muestra evidencia de antagonismo. Por lo tanto, los hallazgos sugieren que la ceftarolina puede ser adecuada para la administración en combinación con uno o más agentes antibacterianos.

Sumario de la invención

- 10 La presente invención proporciona composiciones que comprenden una cantidad terapéuticamente eficaz de ceftarolina fosamil, o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable de la misma, en combinación con tobramicina, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.

Breve descripción de los dibujos

- 15 La Figura 1 muestra las combinaciones sinérgicas (valores medios) demostradas con curvas de destrucción frente al tiempo para los aislados clínicos (A) 2 aislados de *E. coli* productores de ESBL, (B) 2 aislados de *K. pneumoniae* productores de ESBL, (C) 2 aislados de *E. cloacae* desactivada para AmpC y (D) 3 aislados de *P. aeruginosa*. Las leyendas usadas son las siguientes: (-●-) Control de crecimiento, (-▼-) Ceftarolina, (-O-) Meropenem, (-Δ-) Ceftarolina más Meropenem, (-■-) Piperacilina-Tazobactam (4/1), (-□-) Ceftarolina más Piperacilina-Tazobactam, (-◆-) amicacina, (-◇-) Ceftarolina más amicacina, ("●") Aztreonam, (-O -) Ceftarolina más Aztreonam y (...) Límite de detección.
- 20 La Figura 2 muestra la actividad *in vitro* de la ceftarolina, la vancomicina y la tobramicina solas o en combinación a 1/2 de la CIM contra 4 HA-MRSA. Los resultados se presentan en forma de curvas de destrucción frente al tiempo para el (A) aislado R3875 (*hVISA*), el (B) aislado R2303 (*VISA*), los (CD) aislados R3804 y R4039. Las leyendas usadas son las siguientes: (●) Control del crecimiento, (O) Ceftarolina, (T) Tobramicina, (■) Vancomicina, (Δ) Ceftarolina más Tobramicina, (□) Vancomicina más Tobramicina y (...) Límite de detección.

Descripción detallada de la invención

La presente invención proporciona composiciones que comprenden ceftarolina fosamil, o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable de la misma, y tobramicina, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.

En realizaciones ejemplares, las composiciones son para la vía de administración intravenosa o intramuscular.

Formas de dosificación

- 30 La composición farmacéutica incluye, aunque no de forma limitativa, formas de dosificación tales como, comprimidos (incluyendo un comprimido recubierto de azúcar, un comprimido recubierto con película), píldoras, cápsulas (incluyendo microcápsulas), gránulos, gránulos finos, polvos, infusiones en gotas, jarabes, emulsiones, suspensiones, inyecciones, aerosoles, supositorios, trociscos, cataplasmas, pomadas, geles, cremas, preparados de liberación sostenida, etc. En realizaciones ilustrativas, las formas de dosificación son adecuadas para la administración intravenosa o intramuscular.
- 35

Estos preparados se pueden preparar mediante un procedimiento convencional. Como vehículos para preparados inyectables, se hace uso de, por ejemplo, agua destilada o una solución salina fisiológica, o cualquier otro diluyente adecuado. Los vehículos para cápsulas, preparados en polvo, preparados granulares o comprimidos se usan como una mezcla con excipientes farmacéuticamente aceptables conocidos (por ejemplo, almidón, maltosa, sacarosa, carbonato de calcio o fosfato de calcio), aglutinantes (por ejemplo, almidón, goma arábiga, carboximetilcelulosa, hidroxipropilcelulosa o celulosa cristalina), lubricantes (por ejemplo, estearato de magnesio o talco) y disgregantes (por ejemplo, carboximetilo cálcico y talco).

- 40 En realizaciones particulares, las composiciones pueden presentarse en forma de un polvo para su disolución extemporánea en un vehículo apropiado, por ejemplo, agua estéril apirógena. Los ingredientes activos pueden incorporarse con los excipientes usados habitualmente en estas composiciones farmacéuticas, tales como talco, goma arábiga, lactosa, almidón, estearato de magnesio, manteca de cacao, vehículos acuosos o no acuosos, materia grasa de origen animal o vegetal, derivados de parafina, glicoles, diversos agentes humectantes, dispersantes o emulsionantes, conservantes.
- 45

- 50 En otras realizaciones, la composición farmacéutica puede comprender vehículos farmacéuticamente aceptables, incluyendo, pero sin limitación, diluyentes y agentes de carga, que se seleccionan de excipientes, tales como carbonato de calcio, caolín, hidrogenocarbonato de sodio, lactosa, D-manitol, almidón, celulosa cristalina, talco, azúcar granulada fina y sustancia porosa; aglutinantes, tales como dextrina, encías, α-almidón, gelatina, hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa y pululano; espesantes tales como, goma natural, derivado de celulosa, derivado de ácido acrílico; disgregantes, tales como carboximetilcelulosa de calcio, croscarmelosa sódica,

crospovidona, una hidroxipropilcelulosa poco sustituida y almidón parcialmente pregelatinizado; disolventes tales como, agua para inyección, alcohol, propilenglicol, Macrogol, aceite de sésamo y aceite de maíz; dispersantes, tales como Tween 80, HCO60, polietilenglicol, carboximetilcelulosa y alginato de sodio; agentes solubilizantes, tales como polietilenglicol, propilenglicol, D-manitol, bencilo del ácido benzoico, etanol, tris-amino-metano, trietanolamina, carbonato de sodio y ácido cítrico sódico; agentes de suspensión, tales como estearil-trietanolamina, lauril sulfato de sodio, cloruro de benzalconio, alcohol polivinílico y polivinilpirrolidona, hidroximetilcelulosa; agentes calmantes, tales como alcohol bencílico; agentes isotónicos, tales como cloruro de sodio y glicerina; agentes tampón, tales como sal de ácido fosfórico, sal de ácido acético, sal de ácido carbónico y sal de ácido cítrico; lubricantes, tales como estearato de magnesio, estearato de calcio, talco, almidón y benzoato de sodio; agentes colorantes, tales como pigmento de alquitrán, caramelo, óxido férrico, óxido de titanio y riboflavinas; corrigentes, tales como agentes edulcorantes y perfumes; estabilizantes, tales como sulfito de sodio y ácido ascórbico; y conservantes, tales como parabeno y ácido sórbico.

Hay numerosas referencias convencionales disponibles que describen procedimientos para preparar diversas formulaciones adecuadas para administrar los compuestos de acuerdo con la invención. Los ejemplos de posibles formulaciones y preparados se encuentran, por ejemplo, en "the Handbook of Pharmaceutical Excipients", American Pharmaceutical Association (edición actual); "Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets" (Lieberman, Lachman y Schwartz, editores) edición actual, publicado por Marcel Dekker, Inc., así como "Remington's Pharmaceutical Sciences" (Arthur Osol, editor), 1553-1593 (edición actual). El modo de administración y las formas de dosificación están estrechamente relacionadas con las cantidades terapéuticas de los compuestos o las composiciones que son deseables y eficaces para la aplicación de tratamiento dada.

Las formas de dosificación adecuadas incluyen, pero sin limitación, oral, rectal, sublingual, a la mucosa, nasal, oftálmica, subcutánea, intramuscular, intravenosa, transdérmica, espinal, intratecal, intraarticular, intraarterial, subaraquinoidea, bronquial, linfática e intrauterina, y otras formas de dosificación para la administración sistémica de los principios activos. Para preparar dichas formas de dosificación farmacéuticas, el principio activo, se mezcla íntimamente con un vehículo farmacéutico de acuerdo con técnicas de preparación de compuestos farmacéuticos convencionales. El vehículo puede adoptar una amplia variedad de formas dependiendo de la forma de preparación deseada para la administración.

En la preparación de las composiciones en forma de dosificación oral, se puede emplear cualquiera de los medios farmacéuticos habituales. Por lo tanto, para los preparados orales líquidos, tales como por ejemplo, suspensiones, elixires y soluciones, transportadores adecuados y aditivos incluyen agua, glicoles, aceites, alcoholes, agentes aromatizantes, conservantes, agentes colorantes y similares. Para los preparados orales sólidos tales como, por ejemplo, polvos, cápsulas y comprimidos, los transportadores y aditivos adecuados incluyen almidones, azúcares, diluyentes, agentes de granulación, lubricantes, aglutinantes, agentes disgregantes y similares. Si se desea, los comprimidos pueden recubrirse de azúcar o recubrimiento entérico mediante técnicas convencionales.

Para las formulaciones parenterales, el vehículo normalmente comprenderá agua estéril, a través de otros ingredientes, por ejemplo, se pueden incluir ingredientes que potencian la solubilidad y para la preservación. También pueden prepararse soluciones inyectables, en cuyo caso se pueden emplear agentes estabilizantes apropiados.

En algunas aplicaciones, puede ser ventajoso usar el agente activo en una forma "vectorizada", tal como mediante la encapsulación del agente activo en un liposoma u otro medio de encapsulación, o mediante la fijación del agente activo, por ejemplo, mediante enlace covalente, quelación o coordinación asociativa, en una biomolécula adecuada, tal como las seleccionadas entre proteínas, lipoproteínas, glicoproteínas y polisacáridos.

Las formulaciones adecuadas para la administración oral pueden presentarse en forma de unidades diferenciadas tales como cápsulas, sellos, comprimidos o pastillas para chupar, cada una comprendiendo una cantidad predeterminada del principio activo en forma de un polvo o gránulos. Opcionalmente, se puede emplear una suspensión en un licor acuoso o un líquido no acuoso, tal como un jarabe, un elixir, una emulsión o una corriente de aire.

Un comprimido puede fabricarse por compresión o moldeo, o granulación húmeda, opcionalmente con uno o más ingredientes accesorios. Los comprimidos de compresión pueden prepararse comprimiendo en una máquina adecuada, estando el compuesto activo en forma suelta tal como un polvo o gránulos que se mezclan opcionalmente con, por ejemplo, un aglutinante, disgregante, lubricante, diluyente inerte, agente tensioactivo o agente de descarga. Los comprimidos moldeados que comprenden una mezcla del compuesto activo en polvo con un vehículo adecuado se pueden fabricar mediante el moldeo en una máquina adecuada.

Se puede fabricar un jarabe mediante la adición del compuesto activo a una solución acuosa concentrada de un azúcar, por ejemplo, sacarosa, a la que también se puede añadir uno o varios ingredientes auxiliares cualquiera. Dichos ingredientes auxiliares pueden incluir saborizantes, conservantes adecuados, agentes para retardar la cristalización del azúcar y agentes para aumentar la solubilidad de cualquier otro ingrediente, tales como un alcohol polihidroxílico, por ejemplo, glicerol o sorbitol.

Las formulaciones adecuadas para la administración parenteral normalmente comprenden un preparado acuoso estéril del compuesto activo, que preferentemente es isotónico con la sangre del receptor (por ejemplo, solución salina fisiológica). Dichas formulaciones pueden incluir agentes de suspensión, y agentes espesantes y liposomas u otros sistemas de micropartículas que están diseñados para dirigir el compuesto a componentes sanguíneos, o uno o más órganos. Las formulaciones pueden presentarse en forma de monodosis o de multidosis.

La administración parenteral puede ser intravenosa, intraarterial, intratecal, intramuscular, subcutánea, intramuscular, intrabdominal (por ejemplo, intraperitoneal), etc., y puede efectuarse con las bombas de infusión (externas o implantables), o cualquier otro medio adecuado apropiado para la modalidad de administración deseada.

Las formulaciones nasales y otras formulaciones de pulverización en la mucosa (por ejemplo, formas de inhalación) pueden comprender soluciones acuosas purificadas de los compuestos activos con agentes conservantes y agentes isotónicos. Dichas formulaciones se ajustan preferentemente a un pH y estado isotónico compatible con las membranas nasales u otras membranas mucosas. Como alternativa, pueden estar en forma de polvos sólidos finamente divididos suspendidos en un vehículo gaseoso. Dichas formulaciones pueden administrarse por cualquier medio o procedimiento adecuado, por ejemplo, mediante un nebulizador, atomizador, inhalador de dosis medidas o similares.

Las formulaciones para la administración rectal pueden presentarse en forma de un supositorio con un vehículo adecuado tal como manteca de cacao, grasas hidrogenadas o ácidos carboxílicos grasos hidrogenados.

Las formulaciones transdérmicas se pueden preparar incorporando el agente activo en un vehículo tixotrópico o gelatinoso tal como un medio celulósico, por ejemplo, metilcelulosa o hidroxietilcelulosa, siendo luego la formulación resultante envasada en un dispositivo transdérmico adaptado para ser fijado en contacto dérmico con la piel de un portador.

Además de los ingredientes mencionados anteriormente, las formulaciones de la presente invención pueden incluir además uno o más ingredientes auxiliares seleccionados entre diluyentes, tampones, agentes aromatizantes, aglutinantes, disgregantes, agentes tensioactivos, espesantes, lubricantes, conservantes (incluyendo antioxidantes) y similares.

Las formulaciones de la presente invención pueden tener liberación inmediata, liberación sostenida, liberación de inicio retardado o cualquier otro perfil de liberación conocido por un experto en la materia.

Métodos de tratamiento

La presente invención proporciona composiciones útiles en el tratamiento de una infección bacteriana.

La infección bacteriana se puede deber a bacterias Gram-positivas, incluyendo, pero sin limitación, *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (MRSA), *Staphylococcus aureus* adquirida en la comunidad resistente a la meticilina (CAMRSA), *Staphylococcus aureus* susceptible a producto intermedio de vancomicina (VISA), estafilococos negativos en coagulasa resistentes a la meticilina (MR-CoNS), estafilococos negativos en coagulasa susceptibles a productos intermedios de avancomicina (VI-CoNS), *Staphylococcus aureus* susceptible a la meticilina (MSSA), *Streptococcus pneumoniae* (incluyendo cepas resistentes a la penicilina [PRSP]) y cepas resistentes a múltiples fármacos [MDRSP], *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus pyogenes* y *Enterococcus faecalis*. En otras realizaciones, la infección bacteriana se puede deber a bacterias Gram-negativas, tales como *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Haemophilus influenzae* (incluyendo *H. influenzae* resistente a la ampicilina), *Moraxella catarrhalis*, *Proteus mirabilis* y *Acinetobacter baumannii*.

La infección bacteriana se puede deber a un microorganismo, incluyendo, pero sin limitación, *Citrobacter freundii*, *Citrobacter koseri*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae*, *Haemophilus parainfluenzae*, *Klebsiella oxytoca*, *Morganella morganii*, *Proteus vulgaris*, *Providencia rettgeri*, *Providencia stuartii*, *Serratia marcescens*, *Clostridium clostridioforme*, *Eubacterium lentum*, *Peptostreptococcus species*, *Porphyromonas asaccharolytica*, *Clostridium perfringens* y *Fusobacterium*.

La infección bacteriana puede incluir, aunque no de forma limitativa, infecciones de la piel y de la estructura de la piel complicadas (cSSSI); neumonía adquirida en la comunidad (CAP); infecciones intrabdominales complicadas, tales como apendicitis complicada, peritonitis, colecistitis complicada y diverticulitis complicada; infecciones no complicadas y complicadas del tracto urinario, tales como pielonefritis; e infecciones respiratorias y otras nosocomiales.

La ceftarolina o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable de la misma, y la tobramicina, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, se pueden administrar en una sola dosis o se pueden administrar en de dos a seis dosis divididas, por ejemplo, cada 4 horas, 6 horas, 8 horas o 12 horas.

La infección bacteriana puede ser una infección de la piel y de la estructura de la piel complicada o una neumonía adquirida en la comunidad.

La ceftarolina fosamil, o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable de la misma, y la tobramicina, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, se pueden administrar en dosis terapéuticamente eficaces, que pueden variar de acuerdo con el tipo de infección, el paciente en cuestión, la vía de administración y el agente antibacteriano. Se pueden administrar de forma no oral u oral, por ejemplo, como preparados inyectables, cápsulas, comprimidos o preparados granulados.

Se puede usar la vía de administración intravenosa o intramuscular.

La ceftarolina fosamil, o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable de la misma, y la tobramicina, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, pueden administrarse en una dosis combinada de aproximadamente 1 mg a 20 g/día en administraciones únicas o múltiples. La dosis combinada puede variar de aproximadamente 10 mg a 10 g/día. La dosis combinada puede variar de aproximadamente 20 mg a 5 g/día. La dosis combinada puede variar de aproximadamente 30 mg a 2 g/día. La dosis combinada puede ser de aproximadamente 20 mg, 50 mg, 100 mg, 150 mg, 200 mg, 250 mg, 300 mg, 350 mg, 400 mg, 450 mg, 500 mg, 550 mg, 600 mg, 650 mg, 700 mg, 750 mg, 800 mg, 850 mg, 900 mg, 950 mg, 1.000 mg, 1.050 mg, 1.100 mg, 1.150 mg, 1.200 mg, 1.250 mg, 1.300 mg, 1.350 mg, 1.400 mg, 1.450 mg, 1.500 mg, 1.550 mg, 1.600 mg, 1.650 mg, 1.700 mg, 1.750 mg, 1.800 mg, 1.850 mg, 1.900 mg, 1.950 mg, 2.000 mg, 2.050 mg, 2.100 mg, 2.150 mg, 2.200 mg, 2.250 mg, 2.300 mg, 2.350 mg, 2.400 mg, 2.450 mg, 2.500 mg, 2.550 mg, 2.600 mg, 2.650 mg, 2.750 mg, 2.800 mg, 2.850 mg, 2.900 mg, 2.950 mg, 3.000 mg, 3,5 g, 4 g, 4,5 g, 5 g, 5,5 g, 6 g, 6,5 g, 7 g, 7,5 g, 8 g, 8,5 g, 9 g, 9,5 g y 10 g.

La ceftarolina fosamil, o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable de la misma, puede administrarse en una dosis diaria que varía entre aproximadamente 0,5 mg/kg y aproximadamente 400 mg/kg, preferentemente entre aproximadamente 2 mg y 40 mg/kg de peso corporal de un ser humano o un animal infectado con bacterias patógenas. La dosis diaria puede variar de aproximadamente 5 a 30 mg/kg de peso corporal. La dosis diaria puede ser de aproximadamente 20 mg/kg de peso corporal. La dosis diaria se puede administrar en una dosis única, por ejemplo, cada 24 horas. La dosis diaria se puede administrar en de dos a seis dosis divididas, por ejemplo, cada 4 horas, 6 horas, 8 horas o 12 horas.

La ceftarolina fosamil, o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable de la misma, se pueden administrar a dosis que varían de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 3.000 mg por día en administraciones únicas o múltiples. La ceftarolina fosamil, o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable de la misma, se pueden administrar a dosis únicas o múltiples de aproximadamente 10 mg, 20 mg, 30 mg, 40 mg, 50 mg, 100 mg, 200 mg, 250 mg, 300 mg, 350 mg, 400 mg, 450 mg, 500 mg, 550 mg, 600 mg, 650 mg, 700 mg, 750 mg, 800 mg, 850 mg, 900 mg, 950 mg, 1.000 mg, 1.050 mg, 1.100 mg, 1.150 mg, 1.200 mg, 1.250 mg, 1.300 mg, 1.350 mg, 1.400 mg, 1.450 mg, 1.500 mg, 1.550 mg, 1.600 mg, 1.650 mg, 1.700 mg, 1.750 mg y 1.800 mg al día. Por ejemplo, la dosis diaria de ceftarolina fosamil, o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptables de la misma, es de aproximadamente 400 mg, aproximadamente 600 mg, aproximadamente 800 mg o aproximadamente 1.200 mg.

Se pueden administrar aproximadamente 400 mg de ceftarolina fosamil cada 8 horas, 12 horas o 24 horas. Se pueden administrar aproximadamente 600 mg de ceftarolina fosamil cada 8 horas, 12 horas o 24 horas. La duración del tratamiento es de cinco a siete días, de cinco a diez días o de cinco a catorce días.

La dosis diaria de tobramicina puede ser de aproximadamente 0,001 a 20 mg/kg de peso corporal. La dosis diaria de tobramicina puede ser de aproximadamente 1 a 10 mg/kg de peso corporal. La dosis diaria de tobramicina puede variar de aproximadamente 1 mg a 800 mg. La dosis diaria de tobramicina puede variar de aproximadamente 10 mg a 600 mg. La dosis diaria de tobramicina puede variar de aproximadamente 1 mg, 2 mg, 5 mg, 10 mg, 15 mg, 20 mg, 30 mg, 40 mg, 50 mg, 60 mg, 70 mg, 80 mg, 90 mg, 100 mg, 110 mg, 120 mg, 130 mg, 140 mg, 150 mg, 160 mg, 170 mg, 180 mg, 190 mg, 200 mg, 250 mg, 275 mg, 300 mg, 325 mg, 350 mg, 375 mg, 400 mg, 425 mg, 450 mg, 475 mg, 500 mg, 525 mg, 550 mg, 575 mg y 600 mg.

La duración del tratamiento puede depender del tipo, de la gravedad y del lugar de la infección, el progreso clínico y bacteriológico del paciente, y la vía de administración. El tratamiento puede durar entre cinco y catorce días. El tratamiento puede durar entre cinco y diez días. El tratamiento puede durar entre cinco y siete días.

Definiciones

La expresión "farmacéuticamente aceptable" significa biológica o farmacológicamente compatible para su uso *in vivo* en animales o seres humanos, y preferentemente significa aprobado por una agencia reguladora del gobierno federal o un gobierno estatal o enumerado en la Farmacopea de EE.UU. u otra farmacopea reconocida en general para el uso en animales, y más concretamente, en seres humanos.

El término "profármaco" significa un compuesto que es un fármaco precursor, que, tras la administración a un sujeto, experimenta una conversión química mediante procesos metabólicos o procedimientos químicos para producir un compuesto, que sea una fracción activa. Los profármacos adecuados de ceftarolina incluyen, pero sin limitación, derivados de fosfonocephem, tales como por ejemplo, 7β-[2(Z)-etoxiimino-2-(5-fosfonoamino-1,2,4-tiadiazol-3-il)acetamido]-3-[4-(1-metil-4-piridinio)-2-tiazolitio]-3-cefem-4-carboxilato.

Los solvatos de un compuesto pueden formarse cuando una molécula o moléculas de disolvente se incorporan a la

estructura de la red cristalina de la ceftarolina o a una molécula de su profármaco durante, por ejemplo, un procedimiento de cristalización. Los solvatos adecuados incluyen, por ejemplo, hidratos (monohidrato, sesquihidrato, dihidrato), solvatos con compuestos orgánicos (por ejemplo, $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{H}$, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$, CH_3CN) y combinaciones de los mismos.

- 5 Los términos "tratar", "tratamiento" y "tratando" se refieren a uno o más de los siguientes: paliar o aliviar al menos un síntoma de una infección bacteriana en un sujeto; paliar o aliviar la intensidad y/o la duración de una manifestación de infección bacteriana experimentada por un sujeto; y detener, retrasar el inicio (es decir, el período anterior a la manifestación clínica de la infección) y/o reducir el riesgo de que se desarrolle o empeore una infección bacteriana.

- 10 Una "cantidad eficaz" significa la cantidad de una composición de acuerdo con la invención que, cuando se administra a un paciente para el tratamiento de una infección o enfermedad es suficiente para efectuar dicho tratamiento. La "cantidad eficaz" variará dependiendo del principio activo, del estado, infección, de la enfermedad o afección que se vayan a tratar y de su gravedad, y de la edad, el peso, de la condición física y de la capacidad de respuesta del mamífero que se vaya a tratar.

- 15 La expresión "terapéuticamente eficaz" aplicada a una dosis o cantidad se refiere a aquella cantidad de un compuesto o composición farmacéutica que es suficiente para dar lugar a una actividad deseada tras la administración a un mamífero que la necesita.

- 20 Un sujeto o paciente en el que la administración del compuesto terapéutico es un régimen terapéutico eficaz para una infección o enfermedad es preferentemente un ser humano, pero puede ser cualquier animal, incluyendo un animal de laboratorio en el contexto de un ensayo o prueba o experimento actividad. Por lo tanto, como una persona normalmente experta en la técnica puede apreciar fácilmente, las composiciones de la presente invención son particularmente adecuadas para la administración a cualquier animal, particularmente un mamífero, e incluyendo, pero no se limita en absoluto a, seres humanos, animales domésticos, tales como sujetos felinos o caninos, animales de granja, tales como pero sin limitación, bovino, equinos, caprinos, ovinos, y porcinos, animales no manipulados (ya sea en libertad o en un jardín zoológico), animales de investigación, tales como ratones, ratas, conejos, cabras, ovejas, cerdos, perros, gatos, etc., especies aviares, tales como pollos, pavos, aves cantoras, etc., es decir, para uso médico veterinario.

- 25 La expresión "alrededor de" o "aproximadamente" significa dentro de un intervalo de error aceptable para el valor en particular según lo determinado por un experto habitual en la materia, que dependerá en parte de cómo se mide o determina el valor, es decir, de las limitaciones del sistema de medida. Por ejemplo, "aproximadamente" puede significar entre 1 o más de 1 desviaciones típicas, de acuerdo con la práctica en la técnica. Como alternativa, "aproximadamente" con respecto a las composiciones puede significar más o menos un intervalo de hasta el 20 %, preferentemente hasta el 10 %, más preferentemente hasta el 5 %. Como alternativa, particularmente con respecto a los sistemas o procesos biológicos, el término puede significar dentro de un orden de magnitud, preferentemente entre 5 veces, y más preferentemente entre 2 veces, un valor.

35 **Ejemplos**

Los siguientes ejemplos son ilustrativos de la presente invención, y no deben interpretarse como limitantes del alcance de la invención de ninguna manera.

EJEMPLO DE REFERENCIA 1

Combinaciones de ceftarolina usando el procedimiento de microdilución en caldo

- 40 Se evaluó la actividad de la ceftarolina con otros agentes antimicrobianos contra especies diana usando una técnica de damero de microdilución en caldo. La técnica de damero de microdilución en caldo se usó para generar la concentración inhibidora fraccionada (CIF) y los valores del índice de CIF (ICIF). Se determinó el ICIF de la ceftarolina (CPT) en combinación con la vancomicina (VA), linezolid (LZD), levofloxacina (LVX), azitromicina (AZM), daptomicina (DAP), amicacina (AN), aztreonam (ATM), tigeciclina (TGC) y meropenem (MEM) contra múltiples aislados de especies diana clínicamente importantes usando placas preparadas de forma semiautomática.

Materiales y métodos

- 50 La ceftarolina (ceftarolina fosamil; PPI-0903M; n.º de lote M599-R1001) fue proporcionada por Cerexa, Inc. Otros agentes se obtuvieron de la siguiente manera: la vancomicina (n.º de lote 016K1102), la amicacina (n.º de lote 044K1473), el aztreonam (n.º de lote 124K1448), la amoxicilina (n.º de lote 112K0481), el ácido clavulánico (n.º de lote 115K1493) y el cloranfenicol (n.º de lote 123K0588) se adquirieron en Sigma-Aldrich; la azitromicina (n.º de lote HOC212), el meropenem (n.º de lote GOF100) y la ciprofloxacina (n.º de lote IOC265) se obtuvieron en USP; la daptomicina (n.º de lote CDX01#1007-1), la levofloxacina (n.º de lote 446423/1); la linezolid (n.º de lote LZD05003); la tigeciclina (n.º de lote RB5603 Way 156936-9) se obtuvieron en Cubist, Fluka, Pfizer y Wyeth respectivamente.

- 55 Las soluciones madre de todos los agentes antibacterianos se prepararon a 80 veces (x80) la concentración diana final en el disolvente apropiado, y la solución se dejó reposar durante 60 minutos. Todos los agentes antibacterianos

estaban en solución en estas condiciones. Las concentraciones finales del fármaco en las placas de ensayo CIF se ajustaron al valor de CIM de cada agente para cada organismo de ensayo, a menos que la cepa fuera totalmente resistente al agente de ensayo. Los intervalos de concentración probados se muestran en la Tabla 1.

Organismos de ensayo

- 5 Los organismos de ensayo se recibieron originalmente de fuentes clínicas, o de la colección americana de cultivos tipo. Tras su recepción, los aislados se sembraron en estrías en el medio de crecimiento apropiado: Agar de chocolate para *H. influenzae*, Agar de soja triptico II (Becton Dickinson, Sparks, MD) complementado con sangre de oveja desfibrinada al 5 % para estreptococos y Agar de soja triptico sin complementos para el resto de los organismos. Se recogieron las colonias de estas placas y se preparó una suspensión celular en caldo de soja triptico
- 10 (Becton Dickinson) que contenía crioprotector. Las alícuotas se congelaron a -80 °C. El día anterior al ensayo, se descongelaron las siembras congeladas de los organismos que se ensayaron en esa sesión y se sembraron en estrías para aislarlas en las placas apropiadas del medio de agar y se incubaron durante la noche a 35 °C.

Medios de ensayo

- 15 El medio de ensayo para *H. influenzae* era medio de ensayo de *Haemophilus*. Los estreptococos se ensayaron en caldo Mueller Hinton II (Becton Dickinson; Lote 6235472) complementado con 2 % de sangre de caballo lisada (Cleveland Scientific, Bath, OH; Lote H88621). Todos los demás organismos se ensayaron en caldo Mueller Hinton II (Becton Dickinson, Lote 6235472). El caldo se preparó a 1,05 x peso/volumen normal para compensar el volumen del 5 % de los fármacos en las placas de ensayo finales.

Ensayo de concentración inhibidora mínima (CIM)

- 20 Con el fin de seleccionar las concentraciones de ensayo apropiadas para cada combinación de fármacos, en primer lugar, se determinaron los valores de concentración inhibidora mínima (CIM) usando el procedimiento de microdilución en caldo descrito previamente (Clinical and Laboratory Standards Institute. "Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically"; Séptima Edición estándar aprobada. Clinical and Laboratory Standards Institute document M7-A7 [ISBN 1-56238-587-9]. Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pensilvania 19087-1898 EE.UU., 2006).
- 25

Metodología de ensayo

- Los valores de CIF se determinaron usando un procedimiento de microdilución en caldo descrito previamente (Sweeney y Zurenko, 2003; *Antimicrob. Agents Chemother.* 47: 1902-1906). Se usaron manipuladores de líquidos automatizados (Multidrop 384, Labsystems, Helsinki, Finlandia; Biomek 2000 and Multimek 96, Beckman Coulter, Fullerton CA) para realizar diluciones en serie y transferencias de líquidos.
- 30

- Se llenaron los pocillos de placas convencionales de microdilución de 96 pocillos (Falcon 3918) con 150 µl de DMSO al 100 % usando el Multidrop 384. Estas placas se usaron para preparar las "placas madre" de fármaco que proporcionaron las diluciones de fármaco en serie para las placas de combinación de fármacos. Se usó el Biomek 2000 para transferir 150 µl de cada solución madre (x80) de los pocillos de la Columna 1 de una placa de pocillos
- 35 profundos a los pocillos correspondientes de la Columna 1 de la placa madre y para preparar siete diluciones en serie de factor de dilución de 2. Dos placas madre, una para cada fármaco, se combinaron para formar un patrón de "damero" mediante la transferencia de volúmenes iguales (usando una pipeta de múltiples canales) a la placa de combinación de fármacos. La fila H y la columna 8 contenían diluciones en serie de uno solo de los agentes para la determinación de la CIM.

- 40 Las "placas hijas" se cargaron con 180 µl de medio de ensayo usando el Multidrop 384. A continuación, se usó el Multimek 96 para transferir 10 µl de solución de fármaco de cada pocillo de la placa madre combinación de fármacos a cada pocillo correspondiente de la placa hija en una sola etapa. Por último, las placas hijas se inocularon con organismo de ensayo. Se preparó un inóculo estandarizado de cada organismo de acuerdo con las pautas publicadas (Clinical and Laboratory Standards Institute. "Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically"; Séptima Edición estándar aprobada. Clinical and Laboratory Standards Institute document M7-A7 [ISBN 1-56238-587-9]. Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road, Suite
- 45 1400, Wayne, Pensilvania 19087-1898 EE.UU., 2006). Se dispensó el inóculo para cada organismo en reservorios estériles divididos entre la longitud (Beckman Coulter), y se usó Biomek 2000 para inocular las placas. El instrumento administró 10 µl de inóculo estandarizado en cada pocillo para producir una concentración celular final en las placas hijas de aproximadamente 5×10^5 unidades formadoras de colonias/ml.
- 50

- El formato de ensayo dio lugar a la creación de un damero de 8 x 8, en el que cada compuesto se ensayó solo (columna 8 y fila H) y en combinación en proporciones variables de concentración de fármaco. La reproducibilidad del ensayo se controló usando *S. aureus* 0100 y la combinación de amoxicilina y clavulanato, que produce un resultado sinérgico con esta cepa de ensayo debido a su estado positivo en β-lactamasa. El cloranfenicol y las
- 55 quinolonas se reconocen como una combinación que puede ser antagonista. Por consiguiente, se ensayó la combinación de cloranfenicol y ciprofloxacina para demostrar bien ninguna interacción o una interacción antagonista de una combinación de fármacos. En dos de las fechas de ensayo, se ensayó una cepa adicional (*E. faecalis* 0101)

con cloranfenicol-ciprofloxacina.

Las placas se apilaron de tres en tres, cubiertas con una tapa en la placa superior, se colocaron en bolsas de plástico y se incubaron a 35 °C durante aproximadamente 20 horas. Después de la incubación, se retiraron las microplacas de la incubadora y se observaron desde la parte inferior usando un visor de placas ScienceWare. Se marcaron hojas de lectura preparadas para la CIM del fármaco 1 (fila H), la CIM del fármaco 2 (columna 8) y los pocillos de la superficie de contacto de crecimiento-no crecimiento.

Cálculos de la CIF

La CIF se calculó como: (CIM del Compuesto 1 en combinación/CIM del Compuesto 1 solo) + (CIM del Compuesto 2 en combinación/CIM del Compuesto 2 solo). El índice de CIF (ICIF) para el damero se calculó a partir de las CIF individuales mediante la fórmula: $(CIF_1 + CIF_2 + \dots + CIF_n)/n$, en la que n = número de pocillos individuales por placa para los que se calcularon las CIF. En los casos en los que un agente solo produjo un resultado de CIM fuera de escala, se usó la siguiente concentración más alta como el valor de CIM en el cálculo de la CIF.

Los valores del ICIF se han interpretado de una variedad de maneras (Eliopoulos y Moellering, 1991; "Antimicrobial combinations". In *Antibiotics in Laboratory Medicine*, Tercera edición, editado por V Lorian. Williams y Wilkins, Baltimore, MD, 432-492). Muy frecuentemente, los valores de ICIF se han definido de la siguiente manera: $\leq 0,50$, sinergismo; $>0,50-2$, indiferencia; >2 , antagonismo. Más recientemente (Odds, 2003; J. Antimicrob. Chemother. 52(1):1), los valores de ICIF se han interpretado de la siguiente manera. Se evidenció una "interacción sinérgica" mediante la inhibición del crecimiento del organismo mediante combinaciones que se encuentran a concentraciones significativamente por debajo de la CIM de cualquier compuesto solo, lo que resulta en un valor bajo de ICIF ($\leq 0,50$). La interpretación de "no interacción" da lugar a una inhibición del crecimiento a concentraciones por debajo de las CIM de los compuestos individuales, pero el efecto no es significativamente diferente de los efectos aditivos de los dos compuestos, lo que da lugar a un valor ICIF $> 0,50$, pero menor o igual a 4,0. La interpretación "sin interacción" ha sido denominada previamente "aditividad" o "indiferencia". Se produce una "interacción antagonista" cuando las concentraciones de los compuestos en combinación que se requieren para inhibir el crecimiento del organismo son superiores a las de los compuestos individualmente, lo que da lugar a un valor de CIF $> 4,0$. Por lo tanto, mientras que la definición de sinergismo se ha mantenido constante, la definición de aditividad/indiferencia se ha ampliado y se ha cambiado su denominación a "sin interacción". Además, el valor del ICIF indicativo de antagonismo se ha vuelto a definir como > 4 . Si bien no existe un conjunto de criterios para ICIF sancionados oficialmente, el material publicado ha coincidido en el uso de $\leq 0,50$ para definir el sinergismo.

Resultados

En la Tabla 1, se muestran las concentraciones de ensayo para cada par de agentes de ensayo para cada organismo de ensayo. Todos los agentes solos o en combinación eran solubles a todas las concentraciones de ensayo finales. Se incluyeron varias combinaciones de fármacos de control en cada ensayo de CIF (Tabla 2). La combinación de control de amoxicilina y ácido clavulánico demostró la interacción sinérgica esperada (valor de ICIF $\leq 0,50$) para el organismo de control *S. aureus* 0100 en todos los ensayos de CIF. La combinación de control de cloranfenicol y ciprofloxacina, que se esperaba que demostrara una interacción negativa para *S. aureus* o *E. faecalis*, produjo valores de ICIF relativamente altos que se clasificarían bien como antagonismo o sin interacción, de acuerdo con los criterios de corte de ICIF aplicados.

Los valores de CIM y ICIF se muestran en las Tablas 3 a 11. La interpretación que figura en las tablas para cada organismo de ensayo y la combinación de fármacos se basa en los criterios de ICIF publicados recientemente (Odds, 2003). La combinación de ceftarolina y vancomicina, linezolid, daptomicina y tigeciclina (Tablas 3, 4, 5 y 6, respectivamente) produjo un resultado de no interacción para los estafilococos, enterococos y estreptococos, y microorganismos Gram-negativos ensayados. Para la combinación de ceftarolina y meropenem (Tabla 7), se detectaron dos casos de sinergia (*S. aureus* 2202 y *K pneumoniae* 1468), y no hubo interacción para el resto de los organismos de ensayo. La ceftarolina en combinación con la levofloxacina (Tabla 8) produjo un resultado de no interacción para una amplia selección de organismos Gram-positivos y Gram-negativos. La combinación de ceftarolina y amicacina (Tabla 9) produjo dos casos de sinergia [*E. coli* 2273 (ESBL) y *P. aeruginosa* 2559], y notablemente, los valores de ICIF para todas las demás cepas ensayadas fueron < 1 . La ceftarolina combinada con el aztreonam (Tabla 10) no demostró interacción para todas las cepas ensayadas, aunque tres de las cepas tuvieron valores de ICIF relativamente bajos. La combinación de ceftarolina y azitromicina (Tabla 11) no produjo interacción para los neumococos y *H. influenzae*.

El ensayo de ceftarolina en combinación con diversos agentes antibacterianos contra cepas bacterianas representativas individuales demostró sorprendente e inesperadamente varias incidencias de sinergia y un resultado de ninguna interacción para todos los demás organismos ensayados. Además, no se observó evidencia de antagonismo para las combinaciones de fármacos ensayadas. Por lo tanto, la ceftarolina se puede combinar con éxito con un agente antibacteriano para proporcionar composiciones para el tratamiento de infecciones bacterianas.

Tabla 1. Valores de concentración inhibidora mínima (CIM, µg/ml) e intervalos de concentración analizados en los ensayos de concentración inhibidora fraccionada

Organismo	N.º de Micromyx	Fenotipo	Fármaco A	CIM del fármaco A	Conc. de intervalo analizado (µg/ml)	Fármaco B	CIM del fármaco B	Conc. de intervalo analizado (µg/ml)
<i>Staphylococcus aureus</i>	0753	MSSA ¹	Ceftarolina	0,5	0,06-4	Vancomicina	1	0,064
				0,5	0,06-4	Linezolida	4	0,12-8
				0,5	0,06-4	Daptomicina	0,5	0,064
<i>Staphylococcus aureus</i>	2063	MSSA	Ceftarolina	0,5	0,06-4	Vancomicina	1	0,06-4
				0,5	0,06-4	Linezolida	4	0,12-8
				0,5	0,06-4	Daptomicina	1	0,06-4
<i>Staphylococcus aureus</i>	0765	MRSA ²	Ceftarolina	1	0,06-4	Vancomicina	2	0,06-4
				1	0,06-4	Linezolida	4	0,12-8
				1	0,06-4	Daptomicina	0,5	0,06-4
				2	0,06-4	Tigeciclina	0,25	0,015-1
<i>Staphylococcus aureus</i>	2053	MRSA	Ceftarolina	2	0,06-4	Vancomicina	1	0,06-4
				2	0,06-4	Linezolida	2	0,12-8
				2	0,06-4	Daptomicina	0,5	0,06-4
				2	0,06-4	Tigeciclina	0,5	0,015-1
<i>Staphylococcus aureus</i>	2296	CA-MRSA ³	Ceftarolina	1	0,06-4	Meropenem	>16	0,25-16
<i>Staphylococcus aureus</i>	2202	CA-MRSA	Ceftarolina	1	0,06-4	Meropenem	4	0,25-16
<i>Enterococcus faecalis</i>	0795	VSE ⁴	Ceftarolina	8	0,5-32	Vancomicina	2	0,06-4
				8	0,5-32	Linezolida	2	0,12-8
				8	0,5-32	Daptomicina	1	0,06-4
<i>Enterococcus faecalis</i>	0796	VSE	Ceftarolina	2	0,06-4	Vancomicina	2	0,06-4
				4	0,06-4	Linezolida	4	0,12-8
				2	0,06-4	Daptomicina	2	0,06-4
<i>Enterococcus faecalis</i>	0847	VRE ⁵	Ceftarolina	2	0,5-32	Linezolida	2	0,12-8

Organismo		Fenotipo	Fármaco A	CIM del fármaco A	Conc. de intervalo analizado (µg/ml)	Fármaco B	CIM del fármaco B	Conc. de intervalo analizado (µg/ml)
<i>Enterococcus faecalis</i>	0849	VRE	Ceftarolina	4	0,5-32	Linezolida	2	0,12-8
<i>Staphylococcus pneumoniae</i>	0866	PSSP ⁴	Ceftarolina	≤0,002	0,002-0,12	Vancomicina	0,25	0,03-2
				0,008	0,002-0,12	Levofloxacina	1	0,06-4
				0,008	0,002-0,12	Azitromicina	0,06	0,08-0,5
<i>Staphylococcus pneumoniae</i>	0869	PSSP		0,008	0,002-0,12	Vancomicina	0,5	0,03-2
				0,008	0,002-0,12	Levofloxacina	1	0,06-4
				0,008	0,002-0,12	Azitromicina	0,06	0,008-0,5
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	0880	PRSP	Ceftarolina	0,12	0,015-1	Vancomicina	0,5	0,03
				0,12	0,015-1	Levofloxacina	=4	0,06-4
				0,12	0,015-1	Tigeciclina	0,03	0,002-0,12
<i>Staphylococcus pneumoniae</i>	0684	WLSP	Ceftarolina	0,12	0,015-1	Vancomicina	0,5	0,03-2
				0,12	0,015-1	Levofloxacina	1	0,06-4

(continuación)

Organismo		Fenotipo	Fármaco A	CIM del fármaco A	Conc. de intervalo analizado (µg/ml)	Fármaco B	CIM del fármaco B	Conc. de intervalo analizado (µg/ml)
				0,12	0,015-1	Tigeciclina	0,03	0,002-0,12
<i>Staphylococcus pneumoniae</i>	0876	FHSSP	Ceftarolina	0,12	0,015-1	Azitromicina	2	0,5-32
<i>Staphylococcus pneumoniae</i>	0877	MF	Ceftarolina	0,12	0,015-1	Azitromicina		0,5-32
<i>Streptococcus pyogenes</i>	0717		Ceftarolina	0,008	0,002-0,12	Linezolida	1	0,12-8
				0,008	0,002-0,12	Daptomicina	0,06	0,015-1
				0,008	0,002-0,12	Levofloxacina	0,5	0,06-4
<i>Streptococcus pyogenes</i>	0722		Ceftarolina	0,008	0,002-0,12	Linezolida	1	0,12-8
				0,008	0,002-0,12	Daptomicina	0,06	0,015-1
				0,008	0,002-0,12	Levofloxacina	0,5	0,06-4
<i>Acinetobacter baumannii</i>	2601		Ceftarolina	2	0,5-32	Tigeciclina	0,06	0,03-2
<i>Acinetobacter baumannii</i>	2602		Ceftarolina	2	0,5-32	Tigeciclina	0,06	0,03-2
<i>Escherichia coli</i>	2273	ESBL ⁸	Ceftarolina	2	0,5-32	Levofloxacina	>4	0,06-4
				2	0,5-32	amicacina	8	0,5-32
				2	0,5-32	Aztreonam	16	0,5-52
<i>Escherichia coli</i>	1587		Ceftarolina	0,12	0,002-0,12	Levofloxacina	0,06	0,004-0,25
				0,12	0,002-0,12	amicacina	4	0,5-32
				0,12	0,002-0,12	Aztreonam	0,25	0,015-1
<i>Haemophilus influenzae</i>	1224		Ceftarolina	0,06	0,015-1	Levofloxacina	0,015	0,008-0,5
				0,12	0,015-1	Azitromicina	1	0,06-4
<i>Haemophilus influenzae</i>	2797	BLNAR ⁹	Ceftarolina	0,06	0,015-1	Levofloxacina	0,015	0,008-0,5
				0,12	0,015-1	Azitromicina	1	0,06-4
<i>Haemophilus influenzae</i>	2798	BLNAR	Ceftarolina	0,03	0,015-1	Levofloxacina	0,015	0,008-0,5
				0,03	0,015-1	Azitromicina	2	0,06-4
<i>Haemophilus influenzae</i>	2799	BLNAR	Ceftarolina	0,03	0,015-1	Levofloxacina	0,015	0,008-0,5
				0,03	0,015-1	Azitromicina	0,25	0,06-4
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	146\$	ESBL	Ceftarolina	32	0,5-32	Meropenem	0,06	0,015-1
				32	0,5-32	Tigeciclina	0,25	0,03-2
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1461		Ceftarolina	0,25	0,06-4	Levofloxacina	>4	0,06-4
				0,5	0,06-4	amicacina	1	0,5-32
				0,25	0,06-4	Aztreonam	0,25	0,015-1
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1340		Ceftarolina	0,12	0,015-1	Levofloxacina	0,06	0,004-0,25
				0,12	0,015-1	amicacina	1	0,5-32
				0,12	0,015-1	Aztreonam	0,12	0,015-1
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2555		Ceftarolina	32	0,5-32	Meropenem	4	0,25-16

(continuación)

Organismo	N.º de Micromyx	Fenotipo	Fármaco A	CIM del fármaco A	Conc. de intervalo analizado (µg/ml)	Fármaco B	CIM del fármaco B	Conc. de intervalo analizado (µg/ml)
				32	0,5-32	amicacina	8	0,5-32
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2559		Ceftarolina	16	0,5-32	Meropenem	0,12	0,015-1
				16	0,5-32	amicacina	4	0,5-32
<i>Staphylococcus aureus</i> (Placas de control de CIF)	0100 (ATCC n.º 29213)		Amoxicilina	4	0,12-8	Clavulanato	>16	0,25-16
			Cloranfenicol	16	1-64	Ciprofloxacina	0,25-0,5	0,25-16
<i>Enterococcus faecalis</i> (Placas de control de CIF)	0101 (ATCC n.º 29212)		Cloranfenicol	8	1-64	Ciprofloxacina	0,5-1	0,25-16

¹MSSA. *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina²MRSA. *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina³CA-MRSA. *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina adquirido en la comunidad5 ⁴VSE, *Enterococcus* susceptible a la vancomicina⁵VRE, *Enterococcus* resistente a la vancomicina⁶PSSP, *Streptococcus pneumoniae* susceptible a la penicilina⁷PRSP, *Streptococcus pneumoniae* resistente a la penicilina⁸ESBL. Productor de β-lactamasa de espectro ampliado10 ⁹BLNAR. Negativo en β-lactamasa, resistente a la ampicilina**Tabla 2. Sumario de resultados de control para las combinaciones de amoxicilina-ácido clavulánico y cloranfenicol-ciprofloxacina**

Organismo	Compuesto 1		Compuestos 2		ICIF ²
	Nombre	CIM ¹ (µg/ml) Solo	Nombre	CIM (µg/ml) Solo	
<i>S. aureus</i> 0100					0,25
(ATCC 29213)	Amoxicilina	4	Clavulanato	>16	0,27
					0,25
					0,28
<i>S. aureus</i> 0100				0,50	2,07
(ATCC 29213)	Cloranfenicol	16	Ciprofloxacina	0,50	2,78
				0,50	1,91
				0,25	3,32
<i>E. faecalis</i> 0101				1	2,66
(ATCC 29212)	Cloranfenicol	8	Ciprofloxacina	0,5	3,23
				1	1,53

¹CIM, Concentración Inhibidora Mínima²ICIF, Índice de Concentración Inhibidora Fraccionada**Tabla 3. Resumen de los resultados de la concentración inhibidora mínima y la concentración inhibidora fraccionada para la Ceftarolina y la Vancomicina**

Organismo (Fenotipo ¹)	Compuesto 1		Compuesto 2		ICIF ³	Interpretación
	Nombre	CIM ² (µg/ml) Solo	Nombre	CIM (µg/ml) Solo		
<i>S. aureus</i> 0753 (MSSA)		0,5		1	1,05	Sin interacción
<i>S. aureus</i> 2063 (MSSA)		0,5		1	0,96	Sin interacción

(continuación)

Organismo (Fenotipo ¹)	Compuesto 1		Compuesto 2		ICIF ³	Interpretación
	Nombre	CIM ² (µg/ml) Solo	Nombre	CIM (µg/ml) Solo		
<i>S. aureus</i> 0765 (MRSA)		1		2	1,17	Sin interacción
<i>S. aureus</i> 2053 (MRSA)		2		1	138	Sin interacción
<i>E. faecalis</i> 795 (VSE)	Ceftarolina	8	Vancomicina	2	1,05	Sin interacción
<i>E. faecalis</i> 796 (VSE)		2		2	1,34	Sin interacción
<i>S. pneumoniae</i> 866 (PSSP)		≤0,002		0,25	2,95	Sin interacción
<i>S. pneumoniae</i> 869 (PSSP)		0,008		0,5	0,79	Sin interacción
<i>S. pneumoniae</i> 880 (PRSP)		0,12		0,5	0,86	Sin interacción
<i>S. pneumoniae</i> 884 (PRSP)		0,12		0,5	0,66	Sin interacción

Notas al pie para las Tablas 3-11:
¹Fenotipo: MSSA, *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina; MRSA, *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina; CA-MRSA, *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina adquirido en la comunidad; VSE, *Enterococcus* susceptible a la vancomicina VRE, *Enterococcus* resistente a la vancomicina; PSSP, *Streptococcus pneumoniae* susceptible a la penicilina; PRSP, *Streptococcus pneumoniae* resistente a la penicilina; ESBL, productor de β-lactamasa de espectro ampliado; BLNAR, negativo en β-lactamasa, resistente a la ampicilina
²CIM, Concentración Inhibidora Mínima
³ICIF, Índice de Concentración Inhibidora Fraccionada
⁴Interpretación del ICIF ≤ 0,5, sinergismo; > 4, antagonismo; > 0,5 a 4,0, sin interacción

Tabla 4. Resumen de los resultados de la concentración inhibidora mínima y la concentración inhibidora fraccionada para la Ceftarolina y la Linezolid

Organismo (Fenotipo)	Compuesto 1		Compuesto 2		ICIF	Interpretación
	Nombre	CIM (µg/ml) Solo	Nombre	CIM (µg/ml) Solo		
<i>S. aureus</i> 0753 (MSSA)		0,5		4	0,80	Sin interacción
<i>S. aureus</i> 2063 (MSSA)		0,5		4	0,72	Sin interacción
<i>S. aureus</i> 0765 (MRSA)		1		4	1,11	Sin interacción
<i>S. aureus</i> 2053 (MRSA)		2		2	1,05	Sin interacción
<i>E. faecalis</i> 795 (VSE)		8		2	1,23	Sin interacción
<i>E. faecalis</i> 796 (VSE)	Ceftarolina	4	Linezolid	4	0,77	Sin interacción
<i>E. faecalis</i> 847 (VRE)		2		2	1,14	Sin interacción
<i>E. faecalis</i> 849 (VRE)		4		2	1,26	Sin interacción
<i>S. pyogenes</i> 717		0,008		1	1,32	Sin interacción
<i>S. pyogenes</i> 722		0,008		1	1,32	Sin interacción

Tabla 5. Resumen de los resultados de la concentración inhibidora mínima y la concentración inhibidora fraccionada para la Ceftarolina y la Daptomicina

Organismo (Fenotipo)	Compuesto 1		Compuesto 2		ICIF	Interpretación
	Nombre	CIM (µg/ml) Solo	Nombre	CIM (µg/ml) Solo		
<i>S. aureus</i> 0753 (MSSA)		0,5		0,5	0,93	Sin interacción
<i>S. aureus</i> 2063 (MSSA)		0,5		1	0,70	Sin interacción

(continuación)

Organismo (Fenotipo)	Compuesto 1		Compuesto 2		ICIF	Interpretación
	Nombre	CIM (µg/ml) Solo	Nombre	CIM (µg/ml) Solo		
<i>S. aureus</i> 0765 (MRSA)		1		0,5	0,96	Sin interacción
<i>S. aureus</i> 2053 (MRSA)	Ceftarolina	2	Daptomicina	0,5	0,72	Sin interacción
<i>E. faecalis</i> 795 (VSE)		8		1	0,57	Sin interacción
<i>E. faecalis</i> 796 (VSE)		2		2	0,63	Sin interacción
<i>S. pyogenes</i> 717		0,008		0,06	0,75	Sin interacción
<i>S. pyogenes</i> 722		0,008		0,06	1,17	Sin interacción

Tabla 6. Resumen de los resultados de la concentración inhibidora mínima y la concentración inhibidora fraccionada para la Ceftarolina y la Tigeciclina

Organismo (Fenotipo)	Compuesto 1		Compuesto 2		ICIF	Interpretación
	Nombre	CIM (µg/ml) Solo	Nombre	CIM (µg/ml) Solo		
<i>S. aureus</i> 0765 (MRSA)		2		0,25	1,05	Sin interacción
<i>S. aureus</i> 2053 (MRSA)		2		0,5	1,10	Sin interacción
<i>S. pneumoniae</i> 880 (PRSP)		0,12		0,03	1,42	Sin interacción
<i>S. pneumoniae</i> 884 (PRSP)	Ceftarolina	0,12	Tigeciclina	0,03	1,26	Sin interacción
<i>K. pneumoniae</i> 1468 (ESBL)		32		0,25	1,36	Sin interacción
<i>A. baumannii</i> 2601		2		0,06	1,42	Sin interacción
<i>A. baumannii</i> 2602		2		0,06	1,42	Sin interacción

Tabla 7. Resumen de los resultados de la concentración inhibidora mínima y la concentración inhibidora fraccionada para la Ceftarolina y el Meropenem

Organismo (Fenotipo)	Compuesto 1		Compuesto 2		ICIF	Interpretación
	Nombre	CIM (µg/ml) Solo	Nombre	CIM (mg/ml) Solo		
<i>S. aureus</i> 2296 (CA- MRSA)		1		> 16 ^a	0,62	Sin interacción
<i>S. aureus</i> 2202 (CA- MRSA)		1		4	0,44	Sinergia
<i>K. pneumoniae</i> 1468 (ESBL)	Ceftarolina	32	Meropenem	0,06	0,49	Sinergia
<i>P. aeruginosa</i> 2555		32		4	0,60	Sin interacción
<i>P. aeruginosa</i> 2559		16		0,12	1,65	Sin interacción

^a Valor de 32 µg/ml usado para el cálculo de la CIF

Tabla 8. Resumen de los resultados de la concentración inhibidora mínima y la concentración inhibidora fraccionada para la Ceftarolina y la Levofloxacina

Organismo (Fenotipo)	Compuesto 1		Compuesto 2		ICIF	Interpretación
	Nombre	CIM (mg/ml) Solo	Nombre	CIM (mg/ml) Solo		
<i>S. pneumoniae</i> 866 (PSSP)		0,008		1	1,14	Sin interacción
<i>S. pneumoniae</i> 869 (PSSP)		0,008		1	1,04	Sin interacción
	Compuesto 1		Compuesto 2			

(continuación)

Organismo (Fenotipo)	Nombre	CIM (mg/ml) Solo	Nombre	CIM (mg/ml) Solo	ICIF	Interpretación
<i>S. pneumoniae</i> 880 (PRSP)		0,12		>4 ^a	1,19	Sin interacción
<i>S. pneumoniae</i> 884 (PRSP)		0,12		1	1,13	Sin interacción
<i>S. pyogenes</i> 717		0,008		0,5	1,15	Sin interacción
<i>S. pyogenes</i> 722		0,008		0,5	0,90	Sin interacción
<i>K. pneumoniae</i> 1461	Ceftarolina	0,25	Levofloxacina	> 4 ^a	1,75	Sin interacción
<i>K. pneumoniae</i> 1340		0,12		0,06	1,14	Sin interacción
<i>E. coli</i> 2273 (ESBL)		2		> 4 ^a	1,86	Sin interacción
<i>E. coli</i> 1587		0,12		0,06	1,05	Sin interacción
<i>H. influenzae</i> 1224		0,06		0,015	1,76	Sin interacción
<i>H. influenzae</i> 2797 (BLNAR)		0,06		0,015	1,43	Sin interacción
<i>H. influenzae</i> 2798 (BLNAR)		0,03		0,015	1,52	Sin interacción
<i>H. influenzae</i> 2799 (BLNAR)		0,03		0,015	1,52	Sin interacción

^a Valor de 8 µg/ml usado para el cálculo de la CIF**Tabla 9. Resumen de los resultados de la concentración inhibidora mínima y la concentración inhibidora fraccionada para la Ceftarolina y la amicacina**

Organismo (Fenotipo)	Compuesto 1		Compuesto 2		ICIF	Interpretación
	Nombre	CIM (µg/ml) Solo	Nombre	CIM (µg/ml) Solo		
<i>K. pneumoniae</i> 1461		0,5		1	0,79	Sin interacción
<i>K. pneumoniae</i> 1340		0,12		1	0,96	Sin interacción
<i>E. coli</i> 2273 (ESBL)	Ceftarolina	2	amicacina	8	0,50	Sinergia
<i>E. coli</i> 1587		0,12		4	0,96	Sin interacción
<i>P. aeruginosa</i> 2555		32		8	0,83	Sin interacción
<i>P. aeruginosa</i> 2559		16		4	0,42	Sinergia

Tabla 10. Resumen de los resultados de la concentración inhibidora mínima y la concentración inhibidora fraccionada para la Ceftarolina y el Aztreonam

Organismo (Fenotipo)	Compuesto 1		Compuesto 2		ICIF	Interpretación
	Nombre	CIM (µg/ml) Solo	Nombre	CIM (µg/ml) Solo		
<i>K. pneumoniae</i> 1461	Ceftarolina	0,25	Aztreonam	0,25	1,27	Sin interacción
<i>K. pneumoniae</i> 1340		0,12		0,12	0,83	Sin interacción
<i>E. coli</i> 2273 (ESBL)		2		16	0,64	Sin interacción
<i>E. coli</i> 1587		0,12		0,25	0,60	Sin interacción

Tabla 11. Resumen de los resultados de la concentración inhibidora mínima y la concentración inhibidora fraccionada para la Ceftarolina y la Azitromicina

Organismo (Fenotipo)	Compuesto 1		Compuesto 2		ICIF	Interpretación
	Nombre	CIM (µg/ml) Solo	Nombre	CIM (µg/ml) Solo		
<i>S. pneumoniae</i> 866 (PSSP)		0,008		0,06	1,16	Sin interacción
<i>S. pneumoniae</i> 869 (PSSP)		0,008		0,06	1,16	Sin interacción
<i>S. pneumoniae</i> 876 (PRSP)		0,12		2	1,11	Sin interacción
<i>S. pneumoniae</i> 877 (PRSP)		0,12		>32 ^a	0,99	Sin interacción
	Ceftarolina		Azitromicina			
<i>H. influenzae</i> 1224		0,12		1	1,26	Sin interacción
<i>H. influenzae</i> 2797 (BLNAR)		0,12		1	1,13	Sin interacción
<i>H. influenzae</i> 2798 (BLNAR)		0,03		2	1,24	Sin interacción
<i>H. influenzae</i> 2799 (BLNAR)		0,03		0,25	1,11	Sin interacción

^a Valor de 64 µg/ml usado para el cálculo de la CIF

EJEMPLO DE REFERENCIA 2

Combinaciones de Ceftarolina usando el método de la curva de la destrucción frente al tiempo

- 5 Se evaluó la actividad *in vitro* de la ceftarolina combinada con meropenem, piperacilina-tazobactam, cefepima, ampicilina, levofloxacina, aztreonam y tigeciclina. Se realizaron ensayos de sensibilidad para 20 *P. aeruginosa* clínicas, 10 *Escherichia coli* productoras de ESBL, 10 *Klebsiella pneumoniae* productoras de ESBL y 10 *Enterobacter cloacae* desactivadas para AmpC. Se realizaron experimentos de destrucción frente al tiempo para 10 aislados seleccionados al azar con agentes antimicrobianos a 1/4 de la CIM.

10 Materiales y métodos

Cepas bacterianas

- Se seleccionaron veinte *P. aeruginosa* clínicas del Laboratorio de Investigación Antiinfeccioso (ARL, Detroit, MI, EE.UU.), 10 *E. coli* productoras de ESBL, 10 *Klebsiella pneumoniae* productoras de ESBL, así como 10 *Enterobacter cloacae* desactivadas para AmpC de colecciones de aislados clínicos de los Laboratorios ARL y JMI (North Liberty, IA, EE. UU.) para los ensayos de susceptibilidad. Se seleccionaron aleatoriamente diez cepas (2 de *E. coli*, 2 de *K. pneumoniae*, 2 de *E. cloacae* y 4 de *P. aeruginosa*) con varios niveles de susceptibilidad para la ceftarolina para procesarse en experimentos de destrucción frente al tiempo.

Agentes antimicrobianos

- La ceftarolina (ceftarolina fosamil) fue proporcionada por Cerexa, Inc (Alabama, CA, EE. UU.). La piperacilina, el tazobactam, la tigeciclina (Wyeth Pharmaceuticals, Inc., Pearl River, NY, EE.UU.), el meropenem (AstraZeneca Pharmaceuticals LP, Wilmington, DE, EE.UU.) y la cefepima (Elan Pharmaceuticals, Inc., San Diego, CA, EE.UU.) se adquirieron en el mercado. La levofloxacina, la ampicilina y el aztreonam se adquirieron en Sigma-Aldrich Co. (St Louis, MO, EE. UU.).

Medio

- 25 Se usó caldo de Mueller-Hinton (MHB; Difco Laboratories, Detroit, MI, EE. UU.) complementado con magnesio (concentración total de 12,5 µg/ml) y calcio (concentración total de 25 µg/ml) (SMHB) para todas las pruebas de susceptibilidad a la microdilución y el análisis de destrucción frente al tiempo. Se usó agar de soja triptosa (TSA; Difco Laboratories, San José, CA, EE. UU.) para el crecimiento y para cuantificar los recuentos de colonias.

Ensayo de susceptibilidad

- 30 Se determinaron las concentraciones inhibidoras mínimas (CIM), así como las concentraciones bactericidas mínimas (CBM) de los fármacos ensayados usando procedimientos de microdilución en caldo de acuerdo con las directrices del instituto clínico y de laboratorio (CLSI) (Clinical and Laboratory Standards Institute. 2006. "Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically"; Estándar aprobado. 7^a ed. Wayne, PA: CLSI). Todas las pruebas de sensibilidad se realizaron por duplicado, en un inóculo inicial de $5,5 \times 10^5$ UFC/ml y a concentraciones que variaron hasta 1.024 µg/ml de ceftarolina sola o combinada con tazobactam (4/1); hasta

256 µg/ml para amicacina y tigeciclina y hasta 64 µg/ml para aztreonam, meropenem, cefepima, piperacilina/tazobactam y levofloxacina.

Análisis de la curva de destrucción frente al tiempo

Los experimentos de destrucción frente al tiempo se realizaron por duplicado con un inóculo inicial de $\sim 10^6$ UFC/ml. Diez cepas escogidas al azar, incluyendo 2 *E. coli*, 2 *K. pneumoniae*, 2 *E. cloacae* y 4 *P. aeruginosa*, que albergaban varios niveles de susceptibilidad para la ceftarolina, se expusieron a cada fármaco ensayado solo o en combinación a la CIM. Las pautas incluyeron aztreonam, meropenem, cefepima, amicacina, piperacilina/tazobactam, levofloxacina, tigeciclina y ceftarolina solas o combinadas con cada uno de los agentes antimicrobianos enumerados. Se retiraron partes alícuotas (0,1 ml) de los cultivos a 0, 1, 2, 4, 8 y 24 h, y se diluyeron en serie en cloruro de sodio al 0,9 % en frío. La sinergia, el efecto aditivo y la indiferencia se definieron como destrucción $> 2 \log_{10}$, < 2 , pero destrucción $> 1 \log_{10}$ y $\pm$ destrucción 1 log, respectivamente, en comparación con el agente más eficaz a las 24 h. El antagonismo se definió como un crecimiento $> 1 \log_{10}$ en comparación con el agente único menos activo a las 24 h. Los recuentos de bacterias se determinaron por medio de la disposición en espiral de las diluciones apropiadas usando una chapa en espiral automática (WASP; DW Scientific, West Yorkshire, RU) y contando las colonias con el uso del dispositivo de recuento de colonias del protocolo (Synoptics Limited, Frederick, MD, EE. UU.). El límite inferior de detección para el recuento de colonias fue de $2 \log_{10}$ UFC/ml. Las curvas de destrucción frente al tiempo se crearon representando los recuentos medios de colonias ($\log_{10}$ UFC/ml) en función del tiempo. La actividad bactericida del fármaco solo se definió como una reducción $\geq 3 \log_{10}$ UFC/ml (99,9 %) a las 24 h del inóculo de partida, aunque la actividad bactericida de la combinación de fármacos se definió como una reducción $\geq 3 \log_{10}$ UFC/ml (99,9 %) en comparación con el fármaco más eficaz a las 24 h.

Resultados

A excepción de 4 *E. cloacae* (CIM ≤ 1), la ceftarolina mostró un intervalo de CIM de 2-1.024 µg/ml, reducido de 2 a 128 veces mediante combinación con tazobactam para las cepas productoras de ESBL. En los experimentos de destrucción frente al tiempo, ningún agente antimicrobiano solo fue bactericida. Las combinaciones de ceftarolina más tigeciclina, levofloxacina o cefepima fueron principalmente indiferentes. Considerando que, la ceftarolina más la amikacina fue sinérgica para 9 aislados, la ceftarolina más piperacilina-tazobactam fue sinérgica para *E. coli* y *K. pneumoniae*, indiferente para *E. cloacae* e indiferente/aditiva para *P. aeruginosa*. La ceftarolina más el meropenem o el aztreonam fue sinérgica para *E. coli* y *E. cloacae* respectivamente, pero indiferente frente a todos los demás aislados, excepto 1 *P. aeruginosa* (aditividad). No se observó antagonismo con ninguna combinación. La ceftarolina en combinación con la amicacina pareció sinérgica contra el 90 % de las cepas ensayadas.

Susceptibilidad

Las enterobacterias clínicas seleccionadas representaron un gran panel de cepas, que albergaba diversos niveles de susceptibilidad para la ceftarolina y otros agentes antimicrobianos ensayados (Tabla 12). Los valores de CIM de la ceftarolina variaron de 2 a 1024 µg/ml. De acuerdo con los puntos de ruptura de la susceptibilidad para la ceftarolina recientemente propuestos (Brown y Traczewski, 2007; Sumario. D-240, 47ª Intersci. Conf. Antimicrob. Agents Chemother.) los aislados seleccionados incluyeron: 8 cepas susceptibles (CMI ≤ 4 µg/ml): 3 *E. coli*, 1 *K. pneumoniae*, 4 *E. cloacae*; 8 cepas intermedias (CIM = 8 µg/ml): 2 *E. coli*, 2 *K. pneumoniae* y 4 *P. aeruginosa*, y 34 cepas resistentes (CMI ≥ 16 µg/ml) 5 *E. coli*, 7 *K. pneumoniae*, 6 *E. cloacae* y 16 *P. aeruginosa*. En combinación con el tazobactam (en proporción de 4/1), la CIM de la ceftarolina se redujo de 2 a 128 veces para las cepas de *E. coli* y *K. pneumoniae* productoras de ESBL. Por lo tanto, 9 aislados de *E. coli* se volvieron susceptibles y 1 mostró una susceptibilidad intermedia hacia la ceftarolina. Para los aislados de *K. pneumoniae*, 6 aislados fueron susceptibles a la ceftarolina tras la adición de tazobactam, 2 fueron intermedios y solo 2 cepas mostraron resistencia a la ceftarolina (pero con una disminución de la CMI de 8 y 16 veces). La adición de tazobactam redujo la CIM de la ceftarolina dos veces para algunos aislados de *E. cloacae* con desactivación para AmpC y para algunos aislados de *P. aeruginosa* (Tabla 12). Por lo tanto, el tazobactam no modificó el perfil de susceptibilidad de las cepas de *E. cloacae* y *P. aeruginosa*, que aún eran resistentes o intermedias. Los valores de CBM de la ceftarolina (solos o combinados con tazobactam) resultaron ser similares o una dilución superior a la de los valores de CIM (Tabla 12). Otros agentes antimicrobianos mostraron diversos niveles de susceptibilidad frente a cepas clínicas seleccionadas, con intervalos de CIM de 0,03 a ≥ 32 µg/ml. Sin embargo, las enterobacterias parecían susceptibles al meropenem y a la tigeciclina con valores de CIM ≤ 4 y 8 µg/ml, respectivamente. Todas los aislados de *P. aeruginosa* ensayadas fueron susceptibles a la amicacina con un intervalo de CIM de 2 a 16 µg/ml. Además, a excepción de 1 aislado (CIM = 0,5 µg/ml), todos los aislados de *K. pneumoniae* fueron resistentes al aztreonam, con valores de CIM ≥ 8 µg/ml (Tabla 12).

Tabla 12. Perfiles de susceptibilidad (intervalos de CIM/CBM) de 30 aislados clínicos ensayados de *Enterobacteriaceae* y 20 de *P. aeruginosa*

Agentes antimicrobianos	Intervalos de CIM/CBM ($\mu\text{g/ml}$)			
	<i>E. coli</i> (10)	<i>K. pneumoniae</i> (10)	<i>E. cloacae</i> (10)	<i>P. aeruginosa</i> (20)
Ceftarolina	2 - 512 / 4-1024	8 - 1024 / 32-1024	0,125 - 512 / 0,125-1024	8 - 256 / 16-256
Ceftarolina-Tazobactam (4/1)	1 - 8 / 1 - 16	1 - 64 / 4-64	0,125 - 256 / 0,125 - 256	8 - 128 / 16-256
Meropenem	0,03-0,06/0,06 - 0,125	0,63 - 0,06 / 0,06 - 0,125	0,03 - 0,25 / 0,03 - 0,5	0,125 - 16 / 0,125 - 32
Cefepima	0,125 - 256 / 0,25 - 512	0,5 - 16 / 0,5->64	0,06 - 32 / 0,125 - 64	2 - 32/4 - 64
Piperacilina-Tazobactam (4/1)	2 - 64 / 2 - 128	2 ->256 / 4 ->256	2 - 128 / 4 - 256	2 - 256/4-256
Aztreonam	0,125 - >64 / 0,125 - >64	0,25 - >64 / 0,5 - >64	0,125 - >64 / 0,125 - >64	2 - 64/8 - 64
amicacina	1 - 16 / 4 - 64	1 - 32 / 1 - 128	0,5 - 4 / 1 - 8	2 - 16/2 - 64
Levofloxacin	0,03 - 32 / 0,06 - 32	0,25 - >32 / 0,25 - >32	0,03 - 64 / 0,03 - 128	0,25 - 32 / 0,5 - >32
Tigeciclina	0,06 - 0,5 / 0,06 - 4	0,125 - 1 / 0,5 - 8	0,25 - 2 / 0,5 - 4	2 - 32 / 8 - 256

Análisis de destrucción frente al tiempo

- Se evaluó el potencial de sinergia para 10 aislados seleccionados aleatoriamente, que albergaban diversos niveles de susceptibilidad para cada agente antimicrobiano ensayado, incluyendo la ceftarolina (Tablas 13 y 14). En los experimentos de destrucción frente al tiempo, la ceftarolina y los otros agentes solos no fueron bactericidas a 1/4 de la CIM. En combinación, la ceftarolina con la tigeciclina, la levofloxacin y la cefepima fueron principalmente indiferentes (disminución media de $0,01$ a $0,20 \pm 0,30 \log_{10}$ UFC/ml). Se demostró el efecto aditivo con ceftarolina más levofloxacin contra el aislado de *K. pneumoniae* n.º 5427 (reducción media a $1,7 \pm 0,20 \log_{10}$ UFC/ml). La combinación de ceftarolina más cefepima fue aditiva contra 1 *P. aeruginosa* (aislado n.º 1037), con una disminución de $1,8 \pm 0,40 \log_{10}$ UFC/ml. Por el contrario, la ceftarolina más la amicacina demostró un efecto sinérgico contra todas las cepas ensayadas. Las diferencias medias fueron $\sim 5,65$; $4,4$; $5,1$ y $3,6 \log_{10}$ UFC/ml para *E. coli*, *E. cloacae*, *K. pneumoniae* y *P. aeruginosa*, respectivamente (Figura 1). La ceftarolina combinada con el meropenem, aztreonam o piperacilina-tazobactam produjo varios efectos antimicrobianos. La ceftarolina más piperacilina-tazobactam (4/1) fue sinérgica contra los aislados de *E. coli* y *K. pneumoniae*, con diferencias medias similares ($\sim 5,82$ y $5,33 \log_{10}$ UFC/ml) (Figuras 1a-b). Por el contrario, la ceftarolina más la piperacilina-tazobactam (4/1) fue indiferente frente a los 2 aislados de *E. cloacae* (5417 y 4073) y 1 *P. aeruginosa* (aislado n.º 956). Se observó un efecto aditivo con el aislado de *P. aeruginosa* n.º 1037, con la ceftarolina más piperacilina-tazobactam ($1,81 \pm 0,42 \log_{10}$ UFC/ml), así como más aztreonam ($1,01 \pm 0,54 \log_{10}$ UFC/ml). Por último, la combinación de ceftarolina con meropenem fue sinérgica contra *E. coli* productora de ESBL ($\sim 4,45 \log_{10}$ UFC/ml), así como la ceftarolina más aztreonam contra aislados de *E. cloacae* desactivados para AmpC ($\sim 3,03 \log_{10}$ UFC/ml) (Figuras 1a y 1c). No se observó antagonismo en el estudio.

- Varias combinaciones de fármacos sorprendente e inesperadamente prolongaron la actividad de amplio espectro de la ceftarolina a la mayoría de los organismos Gram-negativos de MDR. Varios agentes antimicrobianos condujeron a un efecto sinérgico en combinación con la ceftarolina.

Tabla 13. Actividad *in vitro* de la ceftarolina y agentes antimicrobianos ensayados (CIM/CBM) contra los 10 aislados clínicos seleccionados

	CIM/CBM (µg/ml)									
	<i>E. coli</i>		<i>K. pneumoniae</i>		<i>E. cloacae</i>		<i>P. aeruginosa</i>			
	Aislado n.º		Aislado n.º		Aislado n.º		Aislado n.º			
	5401	5411	5427	5436	4073	5420	796	956	1019	1037
Ceftarolina	4/8	64/128	4/16	1024/1024	256/512	64/128	16/32	128/256	32/64	8/16
Ceftarolina-Tazobactam (4/1)	1/2	0,5/4	1/1	8/8	256/256	64/128	8/16	64/128	32/64	4/16
Meropenem	0,06/0,06	0,06/0,06	0,06/0,06	0,06/0,06	0,25/0,5	0,125/0,125	1/2	0,25/2	1/2	0,5/1
Cefepima	4/4	2/4	0,5/1	16/32	4/16	0,25/1	8/16	8/32	2/4	1/2
Piperacilina-Tazobactam (4/1)	64/128	16/32	2/4	4/4	64/64	64/64	4/16	4/32	4/8	4/16
Aztreonam	0,25/0,25	8/32	0,5/1	64/64	32/64	8/16	4/32	8/64	4/4	4/8
amicacina	2/4	8/16	2/2	1/2	1/8	1/2	16/32	4/64	4/4	2/4
Levofloxacina	32/32	8/16	0,25/2	4/4	0,06/0,06	0,06/0,06	1/2	0,5/1	0,5/1	0,25/0,5
Tigeciclina	0,5/1	0,125/0,5	0,5/2	0,125/1	0,5/2	0,5/2	32/32	16/128	2/8	8/32

Tabla 14. Actividad *in vitro* de combinaciones contra los 10 aislados clínicos seleccionados aleatoriamente

Combinaciones de fármacos	Especie	Aislado	Reducción del recuento bacteriano (media del $\log_{10} \pm$ DT) a:				Efecto
			2 h	4 h	8 h	24 h	
Ceftarolina + Meropenem	<i>E. coli</i>	5401	0,87 $\pm$ 0,20	3,12 $\pm$ 0,14	4,20 $\pm$ 0,72	4,93 $\pm$ 0,75	S
		5411	0,08 $\pm$ 0,58	1,78 $\pm$ 0,15	3,91 $\pm$ 0,13	4,17 $\pm$ 0,47	S
	<i>K. pneumoniae</i>	5427	0,06 $\pm$ 0,13	1,13 $\pm$ 0,46	0,12 $\pm$ 0,05	0,12 $\pm$ 0,03	I
		5436	0,59 $\pm$ 0,05	1,16 $\pm$ 0,15	3,66 $\pm$ 0,32	0,04 $\pm$ 0,12	I
	<i>E. cloacae</i>	4073	0,86 $\pm$ 0,13	1,39 $\pm$ 0,28	1,21 $\pm$ 0,09	0,72 $\pm$ 0,20	I
		5420	0,10 $\pm$ 0,02	1,03 $\pm$ 0,73	1,44 $\pm$ 0,74	0,12 $\pm$ 0,11	I
	<i>P. aeruginosa</i>	796	0,07 $\pm$ 0,08	0,03 $\pm$ 0,04	0,05 $\pm$ 0,03	0,14 $\pm$ 0,16	I
		956	0,02 $\pm$ 0,03	0,21 $\pm$ 0,27	0,10 $\pm$ 0,01	0,31 $\pm$ 0,31	I
		1019	0,01 $\pm$ 0,01	0,27 $\pm$ 0,10	0,04 $\pm$ 0,05	0,05 $\pm$ 0,01	I
		1037	0,20 $\pm$ 0,04	0,32 $\pm$ 0,27	0,28 $\pm$ 0,15	1,71 $\pm$ 0,14	I
Ceftarolina + Piperacilina-Tazobactam	<i>E. coli</i>	5401	0,29 $\pm$ 0,01	2,24 $\pm$ 0,12	4,49 $\pm$ 0,16	5,79 $\pm$ 0,57	S
		5411	0,81 $\pm$ 0,58	2,88 $\pm$ 0,58	4,38 $\pm$ 0,81	5,85 $\pm$ 0,40	S
		5427	0,10 $\pm$ 0,00	1,52 $\pm$ 0,18	4,11 $\pm$ 0,07	5,39 $\pm$ 0,62	S
		5436	0,26 $\pm$ 0,36	0,87 $\pm$ 0,13	3,31 $\pm$ 0,01	5,28 $\pm$ 0,11	S
	<i>E. cloacae</i>	4073	0,04 $\pm$ 0,02	0,04 $\pm$ 0,16	0,17 $\pm$ 0,19	0,02 $\pm$ 0,02	I
		5420	0,15 $\pm$ 0,15	0,80 $\pm$ 0,74	0,08 $\pm$ 0,10	0,04 $\pm$ 0,05	I
	<i>P. aeruginosa</i>	796	0,52 $\pm$ 0,31	0,17 $\pm$ 0,17	0,08 $\pm$ 0,02	0,00 $\pm$ 0,06	I
		956	0,00 $\pm$ 0,20	0,19 $\pm$ 0,10	0,05 $\pm$ 0,10	0,10 $\pm$ 0,06	I
		1019	0,07 $\pm$ 0,03	0,07 $\pm$ 0,23	0,01 $\pm$ 0,10	0,12 $\pm$ 0,00	I
		1037	0,52 $\pm$ 0,18	1,17 $\pm$ 0,19	1,66 $\pm$ 0,47	1,81 $\pm$ 0,42	A
Ceftarolina + Amicacina	<i>E. coli</i>	5401	1,01 $\pm$ 0,00	4,78 $\pm$ 0,08	5,30 $\pm$ 0,08	5,32 $\pm$ 0,02	S
		5411	0,93 $\pm$ 0,80	2,88 $\pm$ 0,32	5,10 $\pm$ 0,06	5,98 $\pm$ 0,37	S
		5427	0,65 $\pm$ 0,24	3,42 $\pm$ 0,08	4,43 $\pm$ 0,38	4,81 $\pm$ 0,34	S
		5436	0,26 $\pm$ 0,36	0,87 $\pm$ 0,14	3,31 $\pm$ 0,01	5,31 $\pm$ 0,14	S
	<i>E. cloacae</i>	4073	1,38 $\pm$ 0,01	1,68 $\pm$ 0,01	3,19 $\pm$ 0,16	4,65 $\pm$ 0,02	S
		5420	0,02 $\pm$ 0,02	1,12 $\pm$ 0,80	3,27 $\pm$ 0,36	4,44 $\pm$ 0,72	S
	<i>P. aeruginosa</i>	796	0,07 $\pm$ 0,05	0,63 $\pm$ 0,31	2,14 $\pm$ 0,41	5,23 $\pm$ 0,32	S
		956	0,36 $\pm$ 0,05	2,61 $\pm$ 0,02	2,66 $\pm$ 0,50	3,60 $\pm$ 0,44	S

(continuación)

Combinaciones de fármacos	Especie	Aislado	Reducción del recuento bacteriano (media del $\log_{10} \pm$ DT) a:				Efecto
		1019	0,16 $\pm$ 0,11	1,32 $\pm$ 0,07	3,84 $\pm$ 0,81	0,67 $\pm$ 0,28	I
		1037	0,09 $\pm$ 0,08	2,13 $\pm$ 0,07	2,71 $\pm$ 0,30	3,51 $\pm$ 0,27	S
Ceftarolina + Levofloxacina	<i>E. coli</i>	5401	0,11 $\pm$ 0,11	1,00 $\pm$ 0,21	0,05 $\pm$ 0,02	0,04 $\pm$ 0,06	I
		5411	0,63 $\pm$ 0,58	0,58 $\pm$ 0,01	0,08 $\pm$ 0,14	0,01 $\pm$ 0,05	I
	<i>K. pneumoniae</i>	5427	0,15 $\pm$ 0,05	0,18 $\pm$ 0,07	1,68 $\pm$ 0,22	1,7 $\pm$ 0,20	A
		5436	0,09 $\pm$ 0,07	1,05 $\pm$ 0,09	0,47 $\pm$ 0,08	0,08 $\pm$ 0,01	I
	<i>E. cloacae</i>	4073	0,10 $\pm$ 0,07	0,24 $\pm$ 0,02	0,10 $\pm$ 0,02	0,16 $\pm$ 0,01	I
		5420	0,01 $\pm$ 0,10	0,41 $\pm$ 0,38	0,05 $\pm$ 0,14	0,04 $\pm$ 0,06	I
	<i>P. aeruginosa</i>	796	0,03 $\pm$ 0,02	0,21 $\pm$ 0,42	0,35 $\pm$ 0,09	0,04 $\pm$ 0,14	I
		956	0,08 $\pm$ 0,09	0,25 $\pm$ 0,23	0,14 $\pm$ 0,00	0,98 $\pm$ 0,06	I
		1019	0,21 $\pm$ 0,15	0,03 $\pm$ 0,01	1,21 $\pm$ 0,13	0,00 $\pm$ 0,00	I
		1037	0,02 $\pm$ 0,10	0,10 $\pm$ 0,15	0,04 $\pm$ 0,01	0,10 $\pm$ 0,36	I
Ceftarolina + Aztreonam	<i>E. coli</i>	5401	0,32 $\pm$ 0,06	1,36 $\pm$ 0,01	0,12 $\pm$ 0,05	0,08 $\pm$ 0,01	I
		5411	0,63 $\pm$ 0,25	0,99 $\pm$ 0,04	0,16 $\pm$ 0,03	0,33 $\pm$ 0,08	I
	<i>K. pneumoniae</i>	5427	0,01 $\pm$ 0,07	0,64 $\pm$ 0,02	0,06 $\pm$ 0,08	0,02 $\pm$ 0,09	I
		5436	0,44 $\pm$ 0,01	0,37 $\pm$ 0,02	2,00 $\pm$ 0,09	0,14 $\pm$ 0,07	I
	<i>E. cloacae</i>	4073	0,69 $\pm$ 0,32	1,71 $\pm$ 0,25	1,73 $\pm$ 0,29	3,08 $\pm$ 0,13	S
		5420	0,03 $\pm$ 0,04	0,90 $\pm$ 0,88	3,33 $\pm$ 0,91	2,99 $\pm$ 0,12	S
	<i>P. aeruginosa</i>	796	0,06 $\pm$ 0,11	0,04 $\pm$ 0,26	0,97 $\pm$ 0,18	0,85 $\pm$ 0,15	I
		956	0,18 $\pm$ 0,15	0,12 $\pm$ 0,17	0,20 $\pm$ 0,53	0,73 $\pm$ 0,68	I
		1019	0,03 $\pm$ 0,05	0,15 $\pm$ 0,22	0,15 $\pm$ 0,03	0,26 $\pm$ 0,27	I
		1037	0,17 $\pm$ 0,09	0,12 $\pm$ 0,36	0,22 $\pm$ 0,16	1,01 $\pm$ 0,54	A
Ceftarolina+ Tigeciclina	<i>E. coli</i>	5401	0,12 $\pm$ 0,08	0,45 $\pm$ 0,78	0,02 $\pm$ 0,11	0,13 $\pm$ 0,07	I
		5411	0,23 $\pm$ 0,11	0,17 $\pm$ 0,09	0,08 $\pm$ 0,15	0,01 $\pm$ 0,02	I
	<i>K. pneumoniae</i>	5427	0,32 $\pm$ 0,07	0,59 $\pm$ 0,02	0,62 $\pm$ 0,59	0,25 $\pm$ 0,31	I
		5436	0,13 $\pm$ 0,16	0,40 $\pm$ 0,52	0,22 $\pm$ 0,17	0,03 $\pm$ 0,02	I
	<i>E. cloacae</i>	4073	0,05 $\pm$ 0,06	0,43 $\pm$ 0,00	0,95 $\pm$ 0,00	0,14 $\pm$ 0,03	I
		5420	0,13 $\pm$ 0,11	0,15 $\pm$ 0,11	0,08 $\pm$ 0,08	0,10 $\pm$ 0,12	I
	<i>P. aeruginosa</i>	796	0,05 $\pm$ 0,03	0,48 $\pm$ 0,08	0,01 $\pm$ 0,03	0,17 $\pm$ 0,28	I
		956	0,12 $\pm$ 0,06	0,22 $\pm$ 0,28	0,28 $\pm$ 0,07	0,33 $\pm$ 0,38	I

(continuación)

Combinaciones de fármacos	Especie	Aislado	Reducción del recuento bacteriano (media del $\log_{10} \pm$ DT) a:				Efecto
		1019	0,00 $\pm$ 0,02	0,10 $\pm$ 0,11	0,11 $\pm$ 0,01	0,14 $\pm$ 0,16	I
		1037	0,10 $\pm$ 0,03	0,06 $\pm$ 0,31	1,07 $\pm$ 0,25	0,54 $\pm$ 0,12	I
Ceftarolina + Cefepima	<i>E. coli</i>	5401	0,37 $\pm$ 0,04	1,54 $\pm$ 0,12	0,04 $\pm$ 0,01	0,03 $\pm$ 0,02	I
		5411	0,56 $\pm$ 0,51	0,38 $\pm$ 0,01	0,07 $\pm$ 0,00	0,01 $\pm$ 0,00	I
	<i>K. pneumoniae</i>	5427	0,08 $\pm$ 0,03	0,82 $\pm$ 0,19	0,38 $\pm$ 0,32	0,20 $\pm$ 0,30	I
		5436	0,01 $\pm$ 0,07	0,51 $\pm$ 0,11	0,158 $\pm$ 0,06	0,31 $\pm$ 0,01	I
	<i>E. cloacae</i>	4073	0,17 $\pm$ 0,12	0,57 $\pm$ 0,14	0,55 $\pm$ 0,14	0,03 $\pm$ 0,02	I
		5420	0,41 $\pm$ 0,33	0,12 $\pm$ 1,09	0,03 $\pm$ 0,06	0,07 $\pm$ 0,11	I
	<i>P. aeruginosa</i>	796	0,02 $\pm$ 0,04	0,27 $\pm$ 0,30	0,08 $\pm$ 0,01	0,02 $\pm$ 0,01	I
		956	0,25 $\pm$ 0,24	0,01 $\pm$ 0,19	0,35 $\pm$ 0,37	0,52 $\pm$ 0,38	I
		1019	0,13 $\pm$ 0,11	0,08 $\pm$ 0,08	0,03 $\pm$ 0,01	0,05 $\pm$ 0,29	I
		1037	0,52 $\pm$ 0,18	1,17 $\pm$ 0,19	1,66 $\pm$ 0,47	1,81 $\pm$ 0,41	A

Ejemplo 3**Actividad *in vitro* y sinergia con aminoglicósidos de la ceftarolina frente a la MRSA adquirida en el hospital**

Se evaluó la actividad *in vitro* de la ceftarolina y su potencial de sinergia en combinación con la tobramicina contra una colección de MRSA adquirida en el hospital recuperado de diversas muestras clínicas y que presentaba diferentes niveles de resistencia para la vancomicina.

Materiales y métodos**Cepas bacterianas**

Doscientos aislados clínicos de HA-MRSA, que albergaban el tipo SCCmecIV, se evaluaron para las pruebas de sensibilidad. Todos los aislados, seleccionados de la colección del Laboratorio de Investigación Antiinfeccioso (ARL, Detroit, MI), se aislaron de pacientes en el Centro Médico de Detroit y se caracterizaron previamente sobre una base molecular. Se seleccionaron cuatro cepas, incluyendo 1 *hVISA* y 1 *VISA*, caracterizadas por el perfil de análisis de la población y Macro Etest para el análisis de la destrucción frente al tiempo.

Agentes antimicrobianos

La ceftarolina (ceftarolina fosamil) fue proporcionada por Cerexa Inc. La linezolid, vancomicina y tobramicina se adquirieron en el mercado (Pfizer Inc., Nueva York, NY y Sigma Chemical Company, St Louis, MO, respectivamente.

Medios

A excepción de la daptomicina, el caldo de Mueller-Hinton (Difco, Detroit, MI) complementado con calcio (25 mg/l) y magnesio (12,5 mg/l) (SMHB) se usó para todas las pruebas de sensibilidad y los experimentos de destrucción frente al tiempo. Para los experimentos con daptomicina, SMHB se complementó con 50 mg/l de calcio y 12,5 mg/l de magnesio. Para el recuento de colonias, se usó agar de soja de triposa (TSA; Difco, Detroit, MI).

Ensayo de susceptibilidad

Se determinaron las concentraciones inhibitoras mínimas (CIM) y las concentraciones bactericidas mínimas (CBM) mediante microdilución en caldo para todos los agentes antimicrobianos, de acuerdo con las directrices del Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI) (Clinical and Laboratory Standards Institute. 2006. "Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically"; Estándar aprobado. 7ª ed. Wayne, PA: CLSI). Los valores de CBM se determinaron sembrando alícuotas de 5 μ l de pocillos transparentes en TSA. Todos los ensayos de susceptibilidad se realizaron por duplicado.

Curvas de destrucción frente al tiempo

Se evaluaron cuatro aislados de HA-MRSA seleccionados aleatoriamente en los experimentos de destrucción frente al tiempo, usando un inóculo de partida a $\sim 10^6$ UFC/ml y agentes antimicrobianos a 1/4 y 1/2 de la CIM. Las pautas incluyeron ceftarolina, vancomicina y tobramicina solas o una combinación de tobramicina con ceftarolina o vancomicina. En resumen, se retiraron partes alícuotas (0,1 ml) de los cultivos a 0, 1, 2, 4, 8 y 24 h, y se diluyeron en serie en cloruro de sodio al 0,9 % en frío. Las diluciones apropiadas se sembraron en placas usando una chapa en espiral automática (WASP; DW Scientific, West Yorkshire, RU) y los recuentos de bacterias se realizaron usando el dispositivo de recuento de colonias del protocolo (Synoptics Limited, Frederick, MD, EE. UU.). Las curvas de destrucción frente al tiempo se crearon representando los recuentos medios de colonias ($\log_{10}$ UFC/ml) en función del tiempo. El límite inferior de detección para el recuento de colonias fue de $2 \log_{10}$ UFC/ml. La sinergia se definió como un aumento de $\geq 2 \log_{10}$ UFC/ml de la destrucción en comparación con el agente antimicrobiano más eficaz solo a las 24 h; La actividad bactericida se definió como una reducción de $\geq 3 \log_{10}$ UFC/ml a las 24 h desde el inóculo de partida. La aditividad, el antagonismo y la indiferencia se definieron como < 2 , pero $> 1 \log_{10}$ de destrucción, $> 1 \log_{10}$ de crecimiento $\pm 1 \log$ de destrucción, respectivamente.

Análisis estadístico

Las diferencias entre las pautas se analizaron mediante la prueba t o ANOVA con ensayo post hoc de Tukey. Todos los análisis estadísticos se realizaron con el programa informático estadístico SPSS (versión 15.0, SPSS, Inc., Chicago, IL). Un valor $p < 0,05$ fue considerado significativo.

Resultados

La ceftarolina fue eficaz contra la recogida de 200 aislados de HA-MRSA recuperados de diversas muestras clínicas. Los valores de susceptibilidad y el origen de los aislados se presentan en las Tablas 15 y 16, respectivamente. Basándose en los puntos de interrupción de la susceptibilidad del CLSI y los puntos de interrupción propuestos recientemente para la ceftarolina (Brown y Traczewski, 2007; Program and Abstracts of the forty-seven Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, Chicago, IL, EE.UU, 2007. Sumario D-239), todos los HA-MRSA, excepto una cepa (aislado R2303), fue susceptible a todos los agentes antimicrobianos ensayados. Para la vancomicina y la linezolida, los valores de CIM fueron similares, y variaron de 0,25 a 4 $\mu\text{g/ml}$. La CIM_{50} y la CIM_{90} fueron una vez más altas para la linezolida en comparación con la vancomicina (1 y 2 $\mu\text{g/ml}$ para la vancomicina frente a 2 y 4 $\mu\text{g/ml}$ para la linezolida, respectivamente). El intervalo de CIM de la daptomicina fue inferior (de 0,125 a 2 $\mu\text{g/ml}$), con la CIM_{50} a 0,25 $\mu\text{g/ml}$ y CIM_{90} a 0,5 $\mu\text{g/ml}$. Los valores de CBM fueron similares a los de las CIM, a excepción de la linezolida, que presentó un intervalo de CBM de 0,5 a 64 $\mu\text{g/ml}$ (Tabla 15).

La ceftarolina presentó valores de la CIM que variaron de 0,25 a 4 $\mu\text{g/ml}$, con la CIM_{50} y la CIM_{90} a 1 $\mu\text{g/ml}$. Se observó una ligera variabilidad, ya que solo el 4 % de las cepas presentó una CIM a 0,25 $\mu\text{g/ml}$ y el 1,5 % a 2 $\mu\text{g/ml}$. Los valores de CBM fueron iguales o una vez más altos que las CIM (Tabla 15). Entre los 200 aislados, el 36 % se recuperó de muestras del tracto respiratorio, el 17 % de la sangre, el 13,5 % de la piel y el 2 % de la orina (Tabla 16). El treinta y uno por ciento no fue caracterizado debido a la falta de información clínica. Los aislados extraídos de la orina mostraron un valor de CIM_{50} a 0,5 $\mu\text{g/ml}$, pero el número de aislados en ese grupo no fue suficiente para hacer una afirmación fiable. Por lo tanto, no se encontraron diferencias en los valores de CIM con respecto a los sitios de la muestra, así como la susceptibilidad a la vancomicina.

Análisis de la destrucción frente al tiempo y potencial de sinergia

Se seleccionaron cuatro HA-MRSA para su procesamiento en los experimentos de destrucción frente al tiempo, usando ceftarolina y vancomicina solas o combinadas con tobramicina. Dos de estos aislados (R2303 y R3578) presentaron una susceptibilidad reducida a la vancomicina y se caracterizaron por VISA (CIM de vancomicina a 4 $\mu\text{g/ml}$) y hVISA (CIM de vancomicina a 2 $\mu\text{g/ml}$). Otros dos HA-MRSA, susceptibles a la vancomicina, fueron seleccionados al azar. La CMI y la CBM de estas 4 cepas se presentan en la Tabla 17. En este estudio, los valores de la CBM se encontraron iguales o una vez más altos que las CMI (Tabla 15). Por lo tanto, la actividad bactericida se cerró a la concentración inhibidora. Para evaluar el potencial de la ceftarolina para la sinergia, se realizaron, por tanto, experimentos de destrucción frente al tiempo a 1/4 y 1/2 de la CIM.

Dado que no se encontró ninguna actividad, ni ninguna sinergia, aditividad, antagonismo o indiferencia en los experimentos de destrucción frente al tiempo a 1/4 de la CIM, los resultados se presentaron a 1/2 de la CIM. En esas condiciones experimentales, ninguno de los agentes antimicrobianos ensayados solo resultó ser bactericida, excepto la ceftarolina, que mostró una actividad bactericida persistente contra el hVISA (aislado R3875) (Figura 2a). Contra la 2 SARM susceptibles a la vancomicina, la ceftarolina presentó una actividad inferior en comparación con el hVISA, con $1,5 \log_{10}$ de destrucción a las 4 horas, seguida de un recrecimiento bacteriano (Figuras 2c-d). Se observó el mismo fenómeno con el ceftobiprol, que demostró una potente actividad destructiva solo a 1/2 de la CIM, contra CA-MRSA (adquirida en la comunidad) y HA-MRSA (Leonard y Rybak, 2008; *Antimicrob Agents Chemother* 52: 2974-2976). Por el contrario, la vancomicina no mostró actividad bactericida contra ninguna de las cepas ensayadas, incluyendo aquellas sin sensibilidad reducida, y, por lo tanto, pareció menos eficaz que la ceftarolina sola (Figuras 2a-d).

En combinación con la tobramicina a 1/2 de la CIM, se observó un efecto sinérgico con la ceftarolina contra ambas

MRSA susceptibles a la vancomicina (aislados R3804 y R4039), con una actividad bactericida a las 6,1 y 4,8 horas, respectivamente (Figuras 2a-b). La vancomicina más la tobramicina fue indiferente, y la diferencia de actividad entre la vancomicina más la tobramicina y la ceftarolina más la tobramicina fue estadísticamente significativa con valores de p de 0,001 contra R3804 y de 0,006 contra R4039 (Figuras 2a-b). La vancomicina más la tobramicina fue sinérgica contra el aislado de *hVISA*, demostrando actividad bactericida a las 5,8 horas. Sin embargo, la actividad de la combinación no resultó ser significativamente diferente a la de la ceftarolina sola o combinada con la tobramicina (valor de p de 0,061) (Figura 2c). Ni los agentes antimicrobianos ensayados solos ni las combinaciones con tobramicina demostraron actividad bactericida o efecto de sinergia contra la cepa R2303 de *VISA* (Figura 2b).

Tabla 15. Repartición de las concentraciones inhibidora/bactericida mínima de 200 aislados de HA-MRSA

	% de aislados													
	CIM ($\mu\text{g/ml}$)						Intervalo	CBM ($\mu\text{g/ml}$)						Intervalo
	0,125	0,25	0,5	1	2	≥ 4		0,125	0,25	0,5	1	2	≥ 4	
Ceftarolina	-	4	35,5	57	1,5	-	0,25-2	-	-	22	62,5	15,5	-	0,5-2
Vancomicina	-	1,5	14,5	62	21,5	0,5	0,25-4	-	0,5	6	52,5	36,5	4,5	0,25-4
Daptomicina	19,5	58,5	20,5	1	-	0,5	0,125-4	9,5	47,5	35	5	2,5	0,5	0,125-4
Linezolid	-	9,5	16	15.5	47.5	11.5	0,25-4	-	-	1.5	12	13.5	73	0,5-64

Tabla 16. Resultados de la susceptibilidad de la ceftarolina en función de los orígenes de los aislados

Origen	Número de aislados	Susceptibilidad ($\mu\text{g/ml}$)			
		CIM ₅₀	Intervalo	CBM ₅₀	Intervalo
Piel ^a	27	1	0,5 - 2	1	0,5 - 2
Pulmón ^b	72	1	0,25 - 2	1	0,5 - 2
Sangre ^c	34	1	0,25 - 2	1	0,5 - 2
Orina	4	0,5	0,5 - 1	1	0,5 - 2
Desconocido	63	1	0,5 - 1	1	0,5 - 2
^a muestras de abscesos, tejidos e hisopos					
^b aspirados, lavado bronquial, lavado, secreción endotraqueal y esputo					
^c sangre y catéter					

Tabla 17. Resultados de susceptibilidad para 4 aislados de HA-MRSA (incluyendo 1 *hVISA* y 1 *VISA*) seleccionados para su procesamiento en experimentos de destrucción frente al tiempo

Aislado n.º	Susceptibilidad ($\mu\text{g/ml}$)					
	Ceftarolina		Vancomicina		Tobramicina	
	CIM	CBM	CIM	CBM	CIM	CBM
R2303	0,25	0,25	4	8	0,125	0,5
R3875	1	1	2	2	0,5	0,5
R3804	0,25	0,25	0,5	1	0,5	1
R4039	0,5	0,5	1	1	1	1

REIVINDICACIONES

1. Una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de ceftarolina fosamil, o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable de la misma, y tobramicina o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.

5 2. La composición de acuerdo con la reivindicación 1, en la que la composición comprende monoacetato de ceftarolina fosamil monohidrato.

3. La composición de acuerdo con la reivindicación 1, en la que la ceftarolina fosamil es anhidra.

4. Una composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, para su uso en el tratamiento de una infección bacteriana.

10

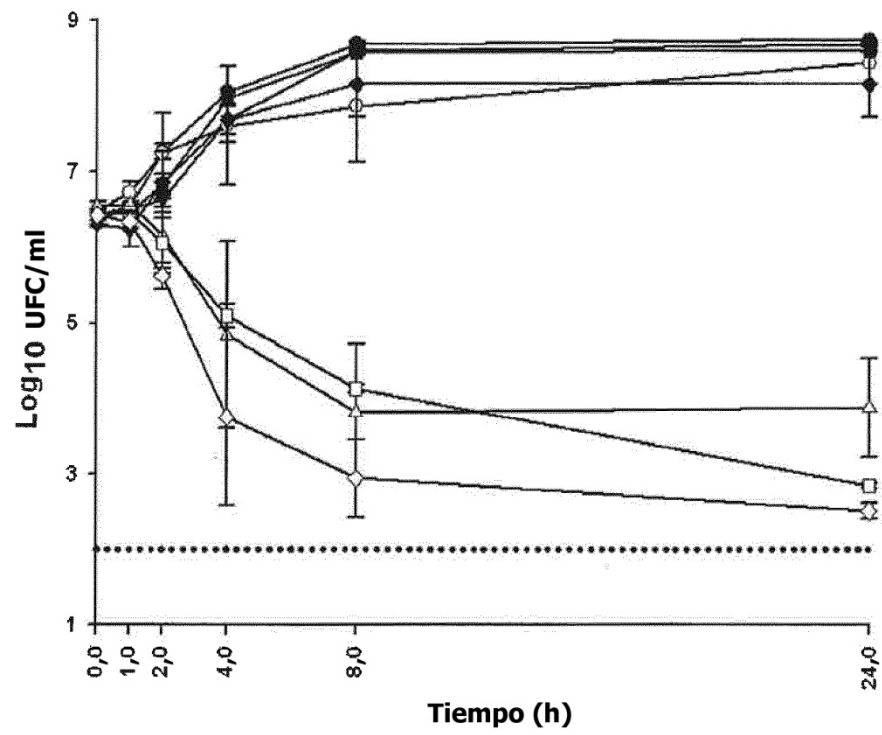


Fig. 1A

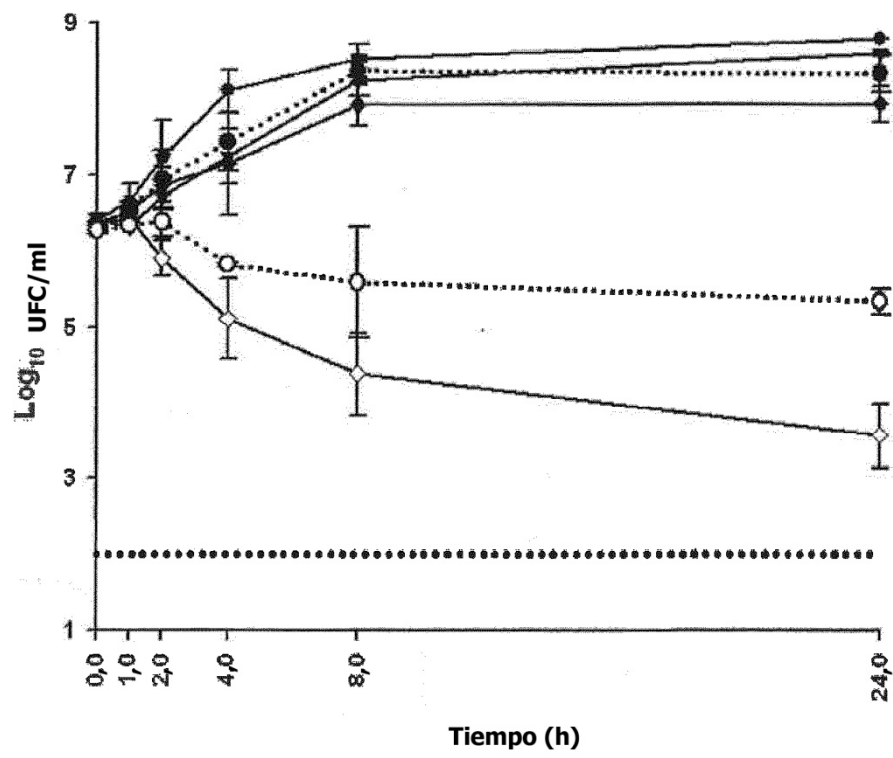


Fig. 1B

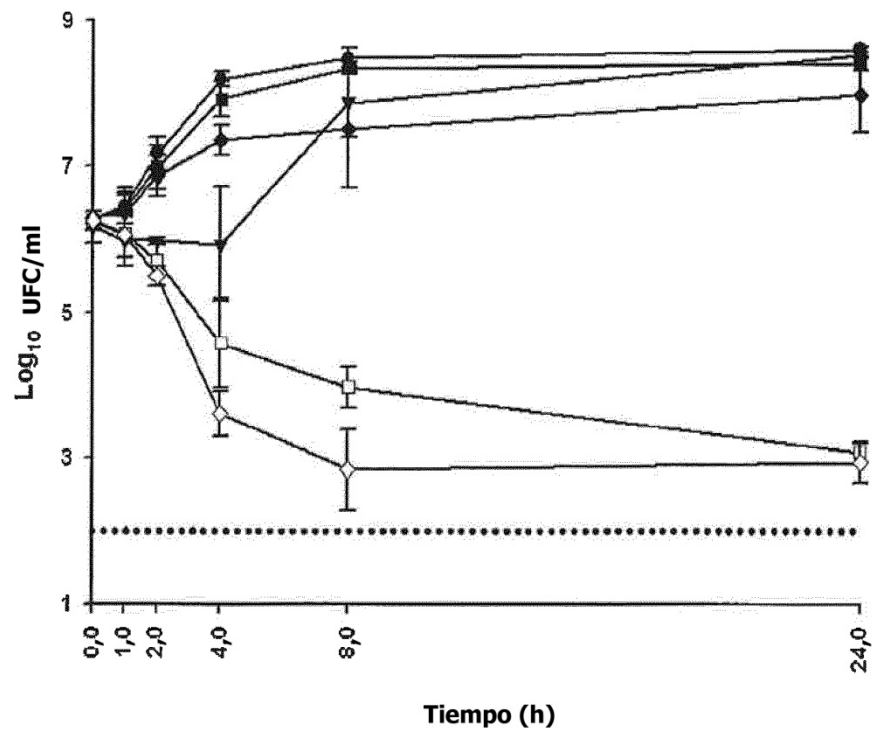


Fig. 1C

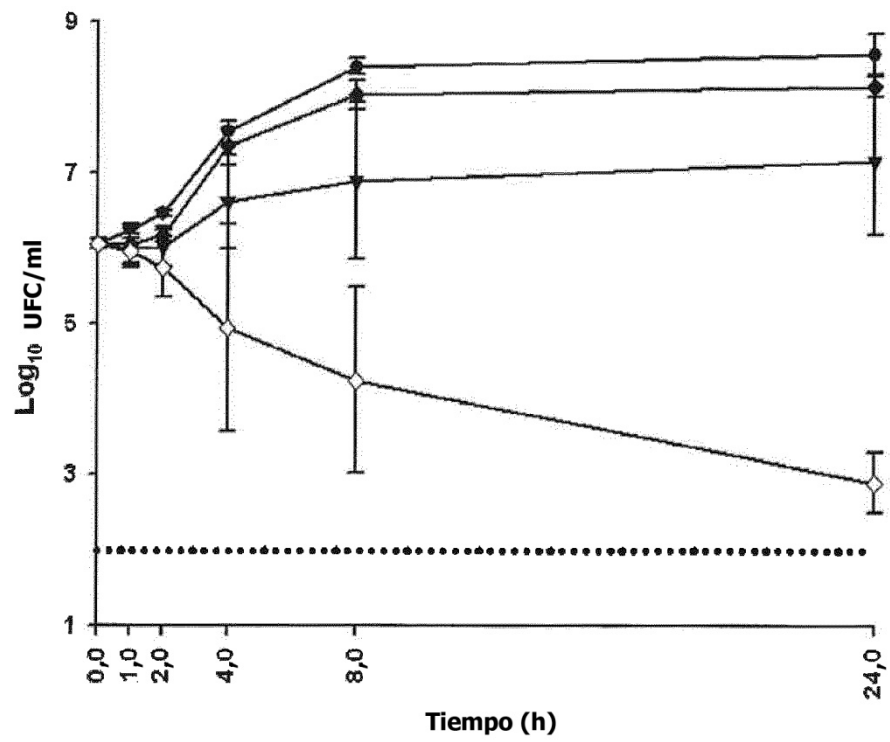


Fig. 1D

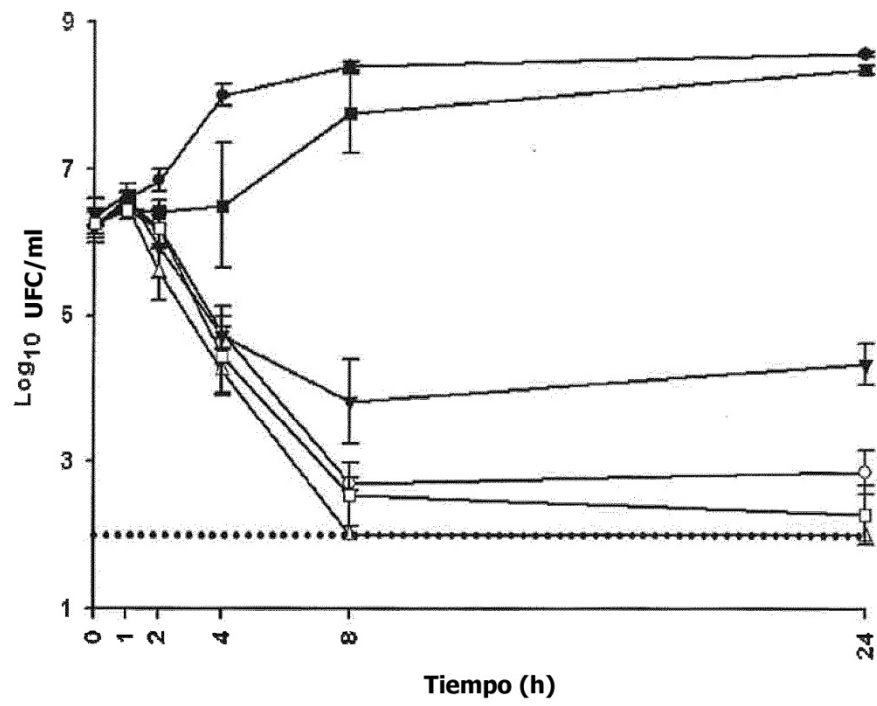


Fig. 2A

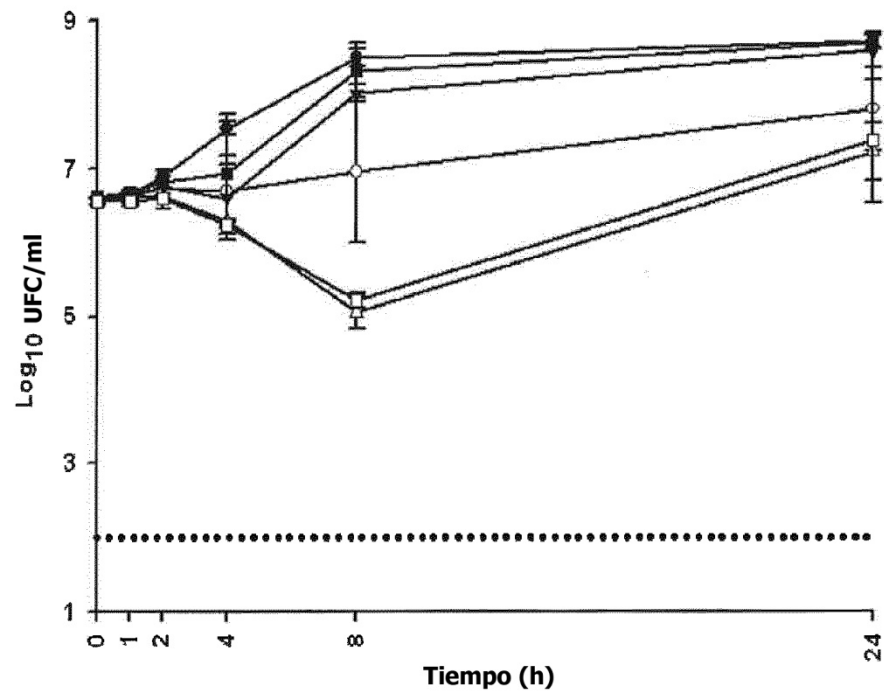


Fig. 2B

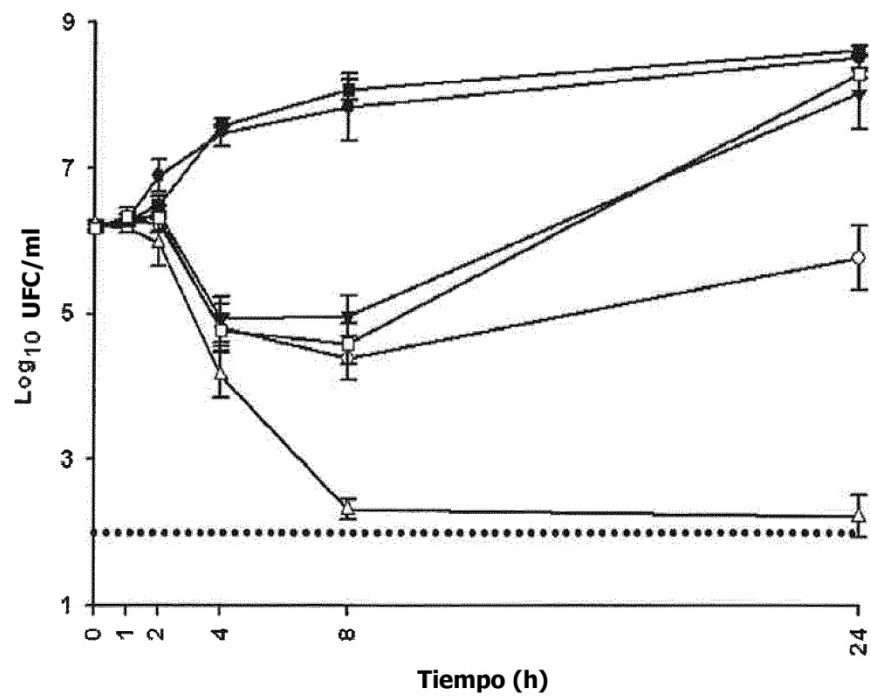


Fig. 2C

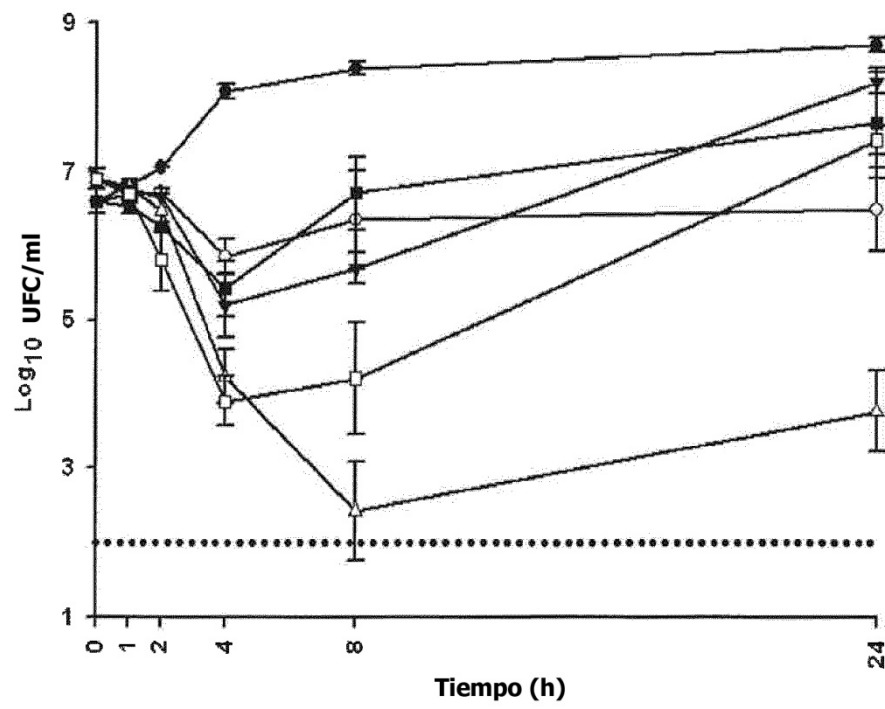


Fig. 2D