

Actividad antimicrobiana *in vitro* de la combinación Diclofenac- Enrofloxacin frente a *Staphylococcus aureus*.

Larrateguy, C.A.; Mostafá, M.M.; Picco, E.J.; Diaz David, D.C.

Cátedra de Farmacología. F.C.V.-U.N.L. calarrateguy@gmail.com

Proyecto CAI+D 2011: “Caracterización de la actividad antimicrobiana *in vitro* del diclofenac frente a *Staphylococcus aureus* valorando su interacción con los antibióticos usados en el tratamiento de mastitis bovina”.

En las últimas décadas varios medicamentos antibacterianos han sido desarrollados y las compañías farmacéuticas han suministrado, generación tras generación, antibióticos mejorados. Sin embargo, el uso masivo y con frecuencia irracional durante períodos prolongados ha dado lugar al desarrollo de resistencia bacteriana. Hoy en día, la presencia de bacterias resistentes sigue su marcha inexorable, por lo que se postula que el descubrimiento de antibióticos más potentes no es la única solución a esta amenaza⁴. Una alternativa a este problema podría ser el empleo de compuestos “no antibióticos” que poseen propiedades antibacterianas. La aplicación conjunta con fármacos antimicrobianos podría resultar en un mejor efecto en comparación a la aplicación de un antibiótico como agente único, posiblemente debido a que los mecanismos de acción son diferentes³. La búsqueda sistemática entre los fármacos “no antibióticos” reveló que el antiinflamatorio no esteroide diclofenac (DCF) posee actividad antibacteriana moderada a fuerte frente a bacterias grampositivas y gramnegativas, tanto *in vitro* como *in vivo*¹.

El objetivo de este trabajo fue evaluar si la incorporación de DCF potenciaba el accionar de enrofloxacin (EFX) frente a una cepa de referencia de *S. aureus*.

Para evaluar el efecto ejercido por la incorporación de DCF sobre la actividad de EFX se utilizó la técnica de macrodilución en tubo. Para ello, los tubos se dispusieron conformando un tablero con diluciones de DCF y EFX en concentraciones inferiores y superiores a la CIM. En el eje X se colocaron las diluciones de DCF en concentraciones iguales a 0; 0,0625; 0,125; 0,25; 0,50 y 1 x CIM; en tanto que en el eje Y se colocaron diluciones de EFX en las siguientes concentraciones: 0; 0,064; 0,12; 0,25; 0,50, 1 y 2 x CIM. De esta manera quedaron representadas todas las posibles combinaciones de las diluciones, además de un control. Cada tubo del tablero presentó un volumen final de 1 mL, de los cuales 0,25 mL se incorporaron con la concentración de DCF y 0,25 mL con la de EFX para esa casilla, correspondiendo los restantes 0,5 mL al inóculo bacteriano (10^6 UFC/mL, cepa de referencia *S. aureus* ATCC 29213). A continuación se incubó a 35° C durante 24 horas, al cabo de las cuales se procedió a la lectura de los resultados. Con estos datos se determinó el Índice de Concentración Inhibitoria Fraccionaria (FICI), el cual se calculó de la siguiente manera:

$$FICI = FIC_{EFX} + FIC_{DCF}$$

donde: $FIC_{EFX} = CIM_{EFX+DCF} / CIM_{EFX}$

$FIC_{DCF} = CIM_{DCF+EFX} / CIM_{DCF}$

Si el FICI es menor o igual a 0,5 hay sinergismo, en tanto que si el FICI es superior a 4 hay antagonismo².

La CIM determinada en este ensayo para DCF fue de 128 µg/mL, mientras que para EFX fue de 0,125 µg/mL. Al aplicar en forma conjunta DCF + EFX se determinó que la CIM de DCF descendió a 64 µg/mL y la de EFX descendió a 0,062 µg/mL (Tabla 1). No obstante, basándose en el cálculo del FICI no se evidenció un efecto sinérgico, ya que el mismo arrojó un resultado de 0,99.

Tabla 1: Representación gráfica de la interacción entre Diclofenac y Enrofloxacin frente a *S. aureus* empleando la técnica del tablero (◻ Con crecimiento bacteriano; ◼ Sin crecimiento bacteriano).

		Diclofenac (µg/ml)					
		256	128	64	32	16	0
Enrofloxacin (µg/ml)	0,25	◻	◻	◻	◻	◻	◻
	0,125	◻	◻	◻	◻	◻	◻
	0,062	◻	◻	◻	◼	◼	◼
	0,031	◻	◻	◼	◼	◼	◼
	0,015	◻	◻	◼	◼	◼	◼
	0,008	◻	◻	◼	◼	◼	◼
	0	◻	◻	◼	◼	◼	◼

En otras publicaciones se demostró que la CIM de Ciprofloxacina se redujo 8 veces (de 0,128 a 0,016 µg/mL) luego de la incorporación de DCF a razón de 32 µg/mL, evidenciándose también un efecto sinérgico con una FICI de 0,25. Asimismo, la CIM de Tulatromicina descendió 4 veces (de 4 a 1 µg/mL) luego de la incorporación de DCF a razón de 64 µg/mL. Basándose en el cálculo del FICI se evidenció un efecto sinérgico, con un valor de 0,5. Para otros antimicrobianos como cefquinoma, cloxacilina, eritromicina, florfenicol y gentamicina, no se demostró efecto sinérgico con DCF³.

Cabe señalar que si bien se ha demostrado que el DCF puede modificar la CIM de cloxacilina y vancomicina frente al *S. aureus*, este efecto es dependiente de la cepa de empleada, por lo que este sería otro factor a tener en cuenta al momento de interpretar los resultados⁴. Por otra parte, dado las propiedades inmunoregulatoras del DCF, es que se requieren de estudios complementarios empleando modelos *in vivo* para determinar la importancia clínica de esta interacción.

Bibliografía

- 1-Annadurai, S.; Basu, S.; Ray, S.; Dastidar, S.G.; Chakrabarty, A.N. (1998). Antibacterial activity of the antiinflammatory agent diclofenac sodium. *Indian J. Exp. Biol.*, 36: 86-90.
- 2-Antimicrobial Agents and Chemotherapy. (2006). Instructions to authors. *Antimicrob. Agents Chemother.* 50:1-21.
- 3- Larrateguy, C.A.; Canalis, M.R.; Mostafá, M.M.; Diaz David, D.C.; Picco, E.J. (2014) Evaluación de la actividad antimicrobiana *in vitro* de diclofenac asociado a antimicrobianos frente a *Staphylococcus aureus*. II Jornada de difusión de la investigación y extensión. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional del Litoral. Octubre de 2014.
- 4- Riordan, J.; Dupre, J.; Cantore-Matyi, S.; Kumar-Singh, A.; Song, Y.; Zaman, S.; Horan, S.; Helal, N.; Nagarajan, V.; Elasri, M.; Wilkinson, B.; Gustafson, J. (2011). Alterations in the transcriptome and antibiotic