

Artículo original

Actividad *in vitro* de la colistina y sinergia entre la combinación de ceftazidima/avibactam y ampicilina/sulbactam en el complejo *Acinetobacter baumannii*

Yaraceli Márquez^{a*}, Ysvette Vásquez^b, Ana Karina Pedra^b, Elina Pérez^b

^aDepartamento Clínico Integral, Escuela de Bioanálisis, Facultad de Ciencias de la Salud, Sede Aragua, Universidad de Carabobo, Valencia, estado Carabobo, Venezuela ^bLaboratorio clínico Delgado Launois. Maracay, estado Aragua. Venezuela.

Recibido 30 de octubre de 2024; aceptado 27 de diciembre de 2024

<https://doi.org/10.69833/RSVM.2024.2.44.02>

Resumen: Actualmente, son limitadas las opciones terapéuticas para tratar infecciones por el complejo *Acinetobacter baumannii* multidrogorresistente (MDR). La colistina es el antimicrobiano de última elección para tratar infecciones por cepas productoras de carbapenemasas. Debido a que presenta efectos adversos, se han propuesto terapias de combinación de antibióticos como ceftazidima/avibactam (CZA) y ampicilina/sulbactam (AMS) para tratar estas infecciones. El objetivo de esta investigación fue evaluar la actividad *in vitro* de la colistina mediante los métodos de elución con disco de colistina, *Drop test*, predifusión con discos de colistina e inmunocromatografía, para la búsqueda de la enzima MCR-1, así como la evaluación de la sinergia farmacológica entre la combinación de CZA y AMS en el complejo *A. baumannii*, bajo una metodología descriptiva experimental de tipo transversal, cuya muestra estuvo representada por cepas del complejo *A. baumannii* MDR aisladas en el laboratorio clínico Delgado Launois de Maracay, recolectadas entre agosto 2022 y agosto 2023. En ninguna de las 17 cepas MDR analizadas se detectó resistencia a la colistina. La combinación *in vitro* de CZA/AMS presentó una sinergia cualitativa positiva, representando una posible opción terapéutica para estas infecciones.

Palabras clave: *Acinetobacter baumannii*, colistina, sinergia farmacológica, ampicilina/sulbactam, ceftazidima/avibactam.

In vitro activity of colistin and synergy between the combination of ceftazidime/avibactam and ampicillin/sulbactam in the *Acinetobacter baumannii* complex

Abstract: Currently, therapeutic options for treating infections caused by multidrug-resistant (MDR) *Acinetobacter baumannii* complex are limited. Colistin is the last-line antimicrobial for treating infections caused by carbapenemase-producing strains. Due to its adverse effects, combination therapies with antibiotics such as ceftazidime/avibactam (CZA) and ampicillin/sulbactam (SAM) have been proposed for treating these infections. The objective of this research was to evaluate the *in vitro* activity of colistin using the colistin disk elution methods, Drop test, prediffusion with colistin disks and immunochromatography, searching for the MCR-1 enzyme, as well as the evaluation of the pharmacological synergy between CZA and AMS combination in the *A. baumannii* complex, under a transversal type descriptive experimental methodology, whose sample was represented by *A. baumannii* MDR complex strains isolated in the Delgado Launois clinical laboratory in Maracay, collected between August 2022 and August 2023. No resistance to colistin was identified in any of the 17 MDR strains analyzed. The *in vitro* combination of CZA/AMS presented a positive qualitative synergy, representing a possible therapeutic option for these infections.

Keywords: *Acinetobacter baumannii*, colistin, pharmacological synergy, sulbactam/ampicillin, ceftazidime/avibactam.

* Correspondencia:
E-mail: yaraceli2284@gmail.com
ORCID: [0000-0002-4165-7004](https://orcid.org/0000-0002-4165-7004)

Introducción

Acinetobacter spp., es un cocobacilo gramnegativo que se encuentra prácticamente en todos los entornos. Solía considerarse un patógeno oportunista de “baja virulencia” y de importancia insignificante. A pesar de las señales sobre el potencial que tenía este grupo de bacterias como patógenas en Infecciones Asociadas a la Atención en Salud (IAAS), su importancia no se apreció hasta mediados de la década de 1990. Posteriormente, una mejor apreciación del impacto de *Acinetobacter* se produjo al ser identificado como el agente etiológico de numerosas infecciones hospitalarias y se conociera mejor su epidemiología. Además, el aumento de su virulencia, su comportamiento como patógeno oportunista y su perfil de resistencia a los antimicrobianos convirtieron a este patógeno en una de las amenazas más importantes para la salud humana. La propagación y prevalencia de *A. baumannii* en instituciones de atención médica se vio favorecida por su capacidad para resistir en ambientes secos y húmedos, su resistencia a desinfectantes y antibióticos y su capacidad para la formación de biopelículas, que conduce a la colonización de superficies inertes y dispositivos médicos [1].

Los carbapenémicos son una opción terapéutica frente al complejo *A. baumannii*, sin embargo, la resistencia a estos antimicrobianos ha ido en aumento. La resistencia adquirida más común se asocia frecuentemente con la presencia de β -lactamasas de clase D que hidrolizan carbapenémicos, las cuales se pueden dividir en cuatro grupos, incluidas las enzimas OXA-23, OXA24/40, OXA-58, las intrínsecas OXA-51 [2] y las metalo β -lactamasas de clase B, siendo las enzimas más comunes la NDM (Nueva Delhi metalo- β -lactamasa) y la VIM (Verona imipenemasa) [3]. Este patógeno posee además una resistencia intrínseca mediada por una cefalosporinasa tipo AmpC no inducible, denominada ADC (del inglés: *Acinetobacter-derived cephalosporinase*), que le confiere resistencia a los betalactámicos. Ha desarrollado a su vez resistencia adquirida por múltiples mecanismos enzimáticos y no enzimáticos a gran variedad de antimicrobianos, incluyendo aminoglucósidos y quinolonas [4].

Por esta razón, las principales autoridades sanitarias mundiales, incluidos el Centro Europeo para la Prevención y el Control de Enfermedades, la Sociedad de Enfermedades Infecciosas de América, la Organización Mundial de la Salud (OMS) y el Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades de América (CDC), declararon que *A. baumannii* resistente a múltiples medicamentos es una amenaza crítica para la salud global,

y este último promovió a *Acinetobacter* resistente a carbapenémicos de un nivel de amenaza “grave” a “urgente” en 2019. También se ha considerado como el más peligroso entre los microorganismos del grupo “ESKAPE” (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *A. baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Enterobacter* spp.), llamados así debido a su competente capacidad para escapar de los efectos de los antimicrobianos [5]. Además, en una publicación realizada en el 2024 por la OMS, se consideró a *A. baumannii* resistente a los carbapenémicos como una bacteria de prioridad crítica en su lista de patógenos bacterianos prioritarios [6].

Su rápida adaptación a los antimicrobianos ha provocado que, en Venezuela, se comiencen a emplear como último recurso ciertos antibióticos antiguos, como la colistina, la cual es un péptido circular catiónico que interactúa con el grupo fosfato cargado negativamente del lípido A y, en consecuencia, destruye la membrana externa de las bacterias. Este antibiótico estaba restringido a administraciones tópicas debido a su toxicidad sistémica [7].

Para el 2020, la OMS informó que se ha detectado resistencia bacteriana a colistina en varios países y regiones. Estos mecanismos de resistencia a la colistina se producen debido a modificaciones en la integridad de la membrana celular, que afectan el anclaje con la bacteria, ya sea al nivel del lipopolisacárido o por alteración iónica de la misma membrana por cambios en los iones de magnesio (Mg^{+}) y calcio (Ca^{2+}) [8]. Estas mutaciones pueden ser de tipo cromosómico o estar asociadas a genes de resistencia en elementos genéticos móviles como plásmidos. También se ha reportado en diferentes países el aumento de la tasa de aislamiento del complejo *A. baumannii* resistente a colistina, debido a mutaciones en los genes *lpxA/C/D* y *pmrA/B*, que dan como resultado una modificación de la biosíntesis del lípido A [9].

La investigación de la resistencia bacteriana a la colistina en los laboratorios de microbiología es un tema importante por considerar, ya que las pruebas de sensibilidad a las polimixinas siempre han generado conflicto, debido a la gran cantidad de parámetros que pueden afectar los resultados, por lo que la interpretación y correlación clínica han sido un gran desafío [10]. En el 2016, los grupos de trabajo del Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (*Clinical & Laboratory Standards Institute, CLSI*) y el Comité Europeo de Pruebas de Sensibilidad a los Antimicrobianos (*European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, EUCAST*), acordaron que el método estándar para determinar la sensibilidad a las polimixinas es la microdilución en caldo para la obtención

de la concentración mínima inhibitoria (CMI), y debe realizarse con sales sulfato de colistina, en cubetas de poliestireno simple sin aditivos como el polisorbato-80 (P-80) [10]. Sin embargo, esta técnica no es posible de aplicar en muchos laboratorios debido al elevado costo del fármaco, equipos, material, tiempo y la complejidad del proceso a realizar, y los métodos moleculares, por sus altos costos, tampoco están al alcance de todos los laboratorios; por esta razón, la utilización de otros métodos aceptados como la predifusión con tabletas de colistina, elución con disco de colistina y el Drop test permite su implementación en cualquier laboratorio básico de microbiología, ya que han presentado alta sensibilidad, especificidad y concordancia en sus resultados frente a las metodologías de referencia [11].

Por otra parte, las terapias de antimicrobianos combinados, con diferentes mecanismos de acción, se han propuesto como las mejores opciones para tratar las infecciones del complejo *A. baumannii* multidrogoresistente (MDR), ofreciendo además alternativas útiles sobre fármacos más tóxicos como la colistina, brindando otras opciones terapéuticas con menos efectos adversos y reservando el uso de la colistina para aquellos casos donde la infección no sea controlada por ningún antimicrobiano, evitando además la propagación de mecanismos de resistencias a este antibiótico de última elección [12].

Es así como se observa que la resistencia a los antimicrobianos es una grave amenaza para los sistemas de salud a nivel mundial, lo que provoca la pérdida de opciones de tratamiento para combatir un número creciente de infecciones bacterianas. En Venezuela, se tienen pocos registros oficiales de las tasas de resistencia antimicrobiana a colistina por parte del complejo *A. baumannii*. Por ello, se evaluó la actividad *in vitro* de la colistina por los métodos de elución con disco de colistina, método de la gota (*Drop test*), predifusión con discos de colistina y el método inmunocromatográfico para la búsqueda de la presencia de la enzima MCR-1. De igual forma, se determinó la sinergia entre la combinación de ceftazidima/avibactam (CZA) y ampicilina/sulbactam (AMS) en cepas pertenecientes al complejo *A. baumannii* aisladas de muestras recibidas en el laboratorio clínico “Delgado Launois”, ubicado en Maracay, estado Aragua.

Materiales y métodos

La investigación realizada fue de tipo descriptiva, con un diseño experimental de tipo transversal. La población estuvo representada por aquellas muestras recibidas para estudio microbiológico de pacientes con sospecha clínica de infección bacteriana en el laboratorio clínico “Delgado Launois”, Maracay, durante el periodo comprendido entre agosto 2022 y agosto 2023. La muestra estuvo representada

por 17 aislados de cepas bacterianas del complejo *A. baumannii* MDR, por lo tanto, el muestreo fue no probabilístico de tipo intencional.

Se emplearon tres métodos de referencia para evaluar la sensibilidad a colistina empleados por el Laboratorio de Referencia en Antimicrobianos INEI-ANLIS “Dr. Carlos G. Malbrán” de Argentina, y una prueba rápida de inmunocromatografía para determinar la presencia de la enzima MCR-1. Con respecto a la actividad sinérgica entre CZA y AMS, la misma se determinó por el método de difusión en disco.

Método de elución con discos de colistina. Se empleó un micrométodo donde se obtuvo como volumen final 1 mL. Para ello, se rotularon cuatro tubos de vidrio para cada aislamiento como 1, 2 y 4 $\mu\text{g/mL}$ más el tubo control. Se añadió 10 mL de caldo Müeller-Hinton ajustado en cationes (CAMHB) en cada tubo, para luego agregarle de forma estéril un disco de colistina (COL) al tubo rotulado como “1”, dos discos de COL al tubo rotulado como “2” y cuatro discos de COL al tubo rotulado como “4” $\mu\text{g/mL}$, permitiendo la elución de los discos de colistina durante una hora a temperatura ambiente. Cumplido el tiempo, se homogenizó con una pipeta el contenido del tubo rotulado como “1” y se fraccionó 1 mL de solución en diez tubos de vidrio con tapa de rosca rotulando todos como “1”; de la misma forma se realizó con los tubos “2”, “4” y control, conservándolos a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ para evitar su evaporación. Antes de utilizar los tubos preparados se dejaron reposar hasta que alcanzaran la temperatura ambiente. A partir del crecimiento obtenido durante toda la noche de un cultivo sin antibióticos, se preparó un inóculo del aislamiento a utilizar en solución salina fisiológica con una turbidez equivalente al patrón 0,5 McFarland (aproximadamente $1,5 \times 10^8$ UFC/mL), del cual se agregaron 5 μL a cada uno de los tubos rotulados incluyendo el control (concentración final: $7,5 \times 10^5$ CFU/mL, aproximadamente); luego se mezcló suavemente cada tubo y se incubaron en estufa a $35 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 16-20 horas. Para la interpretación de los resultados, se consideró COL sensible si la CMI obtenida era $\leq 2\text{ }\mu\text{g/mL}$ o resistente si la CMI era $\geq 4\text{ }\mu\text{g/mL}$ según el grado de turbidez, la cual se verificó mediante la comparación visual del control con cada uno de los tubos que contenían diferentes concentraciones de colistina [13].

Método de predifusión con tabletas Rosco-Neosensitabs®. Para este método, se colocó una tableta de COL de 10 μg , sobre la superficie seca de una placa de agar Müeller-Hinton sin inocular, se incubó por 2 h a una temperatura entre $35\text{--}37\text{ }^{\circ}\text{C}$, después se retiró la placa de la estufa y con un suave golpe se removió la tableta del agar. La placa predifundida se dejó a temperatura ambiente durante 18-22 h antes de usarla y, posteriormente, la suspensión bacteriana del aislamiento a ensayar equivalente a 0,5

McFarland se inoculó con un hisopo sobre la superficie del agar predifundido, incubándola en aerobiosis a $35\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2$ por 18-20 h; al cabo de este tiempo, se procedió a medir la zona de inhibición generada. Para el complejo *A. baumannii* se consideró sensible una zona de inhibición ≥ 20 mm, intermedio 14-19 mm y resistente ≤ 13 mm [14].

Método de la gota (Drop test). Se preparó una solución de colistina sulfato de $16\text{ }\mu\text{g/mL}$ de concentración a partir de los discos comerciales de colistina ($10\text{ }\mu\text{g/mL}$), suspendiendo 8 discos en 5 mL de CAMHB y dejándolos reposar por 1 h; luego se retiraron y se descartaron los discos para utilizar el caldo remanente como solución de trabajo. La superficie del agar Müeller Hinton se inoculó utilizando un hisopo con la suspensión bacteriana equivalente al 0,5 de McFarland del aislamiento a ensayar, dejando reposar la placa con su tapa por 15 min sobre la mesa de trabajo para el secado del inoculo; pasado ese tiempo, se depositó una gota ($10\text{ }\mu\text{L}$) de la solución de colistina sulfato sobre la superficie del agar Müeller Hinton ya inoculada y se reservaron la placas por 15 min a temperatura ambiente para permitir la absorción de la gota, luego se invirtieron y se incubaron de 16-18 h a $35\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2$. Finalmente, el aislado se categorizó como colistina sensible ante la presencia de una zona de inhibición de cualquier diámetro y colistina resistente ante la ausencia de zona de inhibición. La presencia de colonias dentro de la zona de inhibición o pátina de crecimiento es indicativa de subpoblaciones hetero resistentes; en estos casos, la cepa es categorizada como resistente [15].

Test rápido para la detección de la resistencia a colistina en colonia bacteriana desde cultivo (NG-Test® MCR-1)-NG®Biotech. Para esta determinación se empleó el test rápido de la casa comercial NG®Biotech [16], en donde se utilizaron colonias bacterianas obtenidas en medio de cultivo sólido tras 16 a 24 h de incubación procesadas en un tampón de extracción. Para la preparación de la muestra, se dispensaron 5 gotas ($150\text{ }\mu\text{L}$) de tampón de extracción en un tubo Eppendorf (incluido en el kit), se tomó una colonia del cultivo con un asa de siembra y se suspendió en el tubo que contiene el tampón de extracción, se cerró el tubo con el tapón y se homogenizó la mezcla en el vórtex. Una vez preparada la muestra, se abrió el cartucho, se extrajo la placa comercial y se procedió a realizar el análisis de inmediato, tomando $100\text{ }\mu\text{L}$ de la mezcla con la pipeta provista en el kit (la muestra debe llegar a la línea negra de la pipeta para tomar exactamente $100\text{ }\mu\text{L}$); luego se dispuso el volumen adecuado en el pozo de la placa identificado como "S" y se dejó reposar 15 min. En este tiempo la muestra migró a través del papel que contiene un conjugado de nitrocelulosa, y las enzimas presentes reaccionaron con los anticuerpos monoclonales anti-MCR-1. Si al pasar el período de tiempo estipulado aparece una línea coloreada solo en la zona de control ©, la muestra no

contiene la enzima MCR-1 y se interpreta como resultado negativo, mientras que la aparición de dos líneas coloreadas, una en la zona de control © y otra en la zona de test (T) indica que la muestra contiene la enzima MCR-1 y se interpretó como un resultado positivo [16].

Test de sinergia cualitativa entre CZA/AMS por difusión de discos. La evaluación de la sinergia *in vitro* de la combinación de CZA/AMS se realizó siguiendo las recomendaciones del protocolo de trabajo de la Red Nacional de Vigilancia de la Resistencia a los Antimicrobianos WHONET Argentina (2021), mediante la colocación en forma de L de 4 discos de CZA de $10/4\text{ }\mu\text{g}$ y 4 discos de AMS de $20\text{ }\mu\text{g}$ en agar Müeller Hinton previamente inoculado con la cepa aislada del complejo *A. baumannii* MDR a una turbidez de 0,5 McFarland. La actividad sinérgica positiva se observó en el punto donde interactúan ambos antibióticos mediante la ampliación de la zona de inhibición; en la ausencia de actividad sinérgica no se observó ampliación de la inhibición en la zona donde se unen ambos antibióticos [17].

Análisis de los resultados. Los resultados de las cepas ensayadas se expresaron en números enteros y porcentajes.

Resultados y discusión

Durante el período establecido, se aislaron e identificaron un total de 17 cepas del complejo *A. baumannii* MDR. De estas, seis fueron productoras de carbapenemasas tipo metalo-beta lactamasa (M β L).

Al evaluar la colistina mediante el método de elución de discos, el 100 % de las cepas MDR analizadas resultaron sensibles, mostrando una CMI $\leq 1\text{ }\mu\text{g/mL}$. Para el método de *Drop test* se obtuvo el mismo resultado, ya que todas las cepas estudiadas fueron sensibles, presentando una zona de inhibición (Figura 1).



Figura 1. Cepas sensibles del complejo *A. baumannii*. A: micrométodo de elución de discos de colistina. B: *Drop test*.

Con respecto al método de predifusión con discos de colistina, las cepas mostraron un comportamiento diferente al de los dos métodos anteriores, ya que, de las 17 cepas, el 76 % ($n=13$) presentaron sensibilidad con zonas de inhibición ≥ 20 mm, y 24 % ($n=4$) resultaron intermedias con una zona de inhibición entre 14-19 mm (Figura 2).



Figura 2. Cepa sensible (S) e intermedia (I) del complejo *A. baumannii* por el método de predifusión con disco de colistina.

Los datos se ven reflejados en la tabla 1.

Tabla 1. Métodos para la evaluación de la susceptibilidad a la colistina en 17 cepas del complejo *A. baumannii* MDR

Método	Sensible n (%)	Intermedio n (%)	Resistente n (%)
Elución de discos	17 (100)	NA	0 (0)
<i>Drop Test</i>	17 (100)	NA	0 (0)
Predifusión	13 (76)	4 (24)	0 (0)

n: número total de cepas, NA: no aplica

Los resultados derivados de los métodos de elución de discos de colistina y el *Drop test*, fueron iguales a los evidenciados en la determinación de la susceptibilidad a colistina en cepas del complejo *A. baumannii*. A pesar que estos métodos no están aprobados por el CLSI para la evaluación de la susceptibilidad a la colistina en este patógeno, son métodos que han sido estandarizados por el Laboratorio de Referencia en Antimicrobianos INE-ANLIS “Dr. Carlos G. Malbrán” de Argentina, los cuales han demostrado ser de fácil ejecución y de bajo costo, pudiendo ser estandarizado en los laboratorios de Venezuela; estos resultados pueden compararse con el trabajo realizado por Simner *et al.*, donde obtuvieron una concordancia del 98 % para la determinación de la CMI de la colistina en cepas del complejo *A. baumannii* con el método de elución de discos de colistina, en comparación con el método de microdilución en caldo, concluyendo que es un método fácil y accesible para evaluar la resistencia a colistina [18]. Al respecto, Pasteran *et al.*, validaron al método de *Drop test* como cribado para descartar cepas resistentes a colistina, con un rendimiento excelente del 100 % de las cepas analizadas del complejo *A. baumannii*, en comparación con el método de microdilución en caldo, haciendo énfasis en que esta metodología es una propuesta que puede ser adoptada para el complejo *A. baumannii* [19].

En el análisis mediante el método de predifusión con discos de colistina, a diferencia de los métodos anteriores, se observó que en el 24 % de las cepas en estudio se obtuvieron resultados intermedios, cuestionando la reproducibilidad de este método para su uso en la evaluación de la susceptibilidad a colistina para el complejo *A. baumannii*. Resultados similares a los obtenidos en esta investigación han sido reportados, mediante la evaluación de los tres métodos en siete cepas del complejo *A. baumannii*, observando que el método de predifusión con discos de colistina no obtuvo resultados confiables, ya que de las cepas estudiadas el 100 % resultó sensible por los métodos de elución de discos de colistina y *Drop test*, mientras que solo dos fueron sensibles por el método de predifusión con discos de colistina; las cepas restantes mostraron resultados intermedios, concluyendo que no hubo asociación estadísticamente significativa, y que no es el mejor método para emplear al evaluar la susceptibilidad a la colistina [20].

Se ha señalado el uso de colistina como una opción terapéutica para el tratamiento de infecciones causadas por el complejo *A. baumannii* MDR. Esta afirmación es respaldada por diferentes estudios, donde aquellos pacientes con infecciones graves tratados con monoterapia y terapias combinadas con colistina obtuvieron una respuesta clínica favorable de un 85,7 % a los 15 días del tratamiento, sin embargo, un 5,4 % de los pacientes tratados, desarrollaron nefrotoxicidad, siendo este uno de los efectos adversos de su uso [21]. Del mismo modo, se ha evidenciado que, en pacientes críticos, el uso extensivo de polimixinas para el tratamiento de infecciones por el complejo *A. baumannii* puede inducir a una mayor resistencia [22]; además, se ha evidenciado el desarrollo de heteroresistencia a la colistina en aislados del complejo *A. baumannii*. En consecuencia, los expertos recomiendan la terapia combinada de polimixinas con otros antimicrobianos [23].

Evidencia adicional sobre el fracaso clínico y la aparición de resistencia durante la monoterapia con colistina indica que, en infecciones graves por *A. baumannii*, ésta debe ser empleada en terapia combinada, con el objetivo de aumentar la probabilidad de éxito terapéutico y reducir la nefrotoxicidad relacionada a dosis elevadas; adicionalmente, su actividad a nivel pulmonar es subóptima y no produce la eliminación bacteriana [24]. Por otra parte, de las 17 cepas MDR analizadas por el test rápido, el 100 % resultó negativo para la enzima que codificada el gen *mcr-1* (Figura 3). Mediante estos resultados, se demostró la utilidad del método como herramienta rápida para la vigilancia epidemiológica en la detección de la enzima MCR -1, obteniendo resultados en 15 minutos, con una sensibilidad del 100 % y una especificidad del 98 %. Esta afirmación es respaldada por un estudio donde se ha empleado el método

inmuncromatográfico en bacterias gramnegativas que portaban el gen *mcr-1* mediante su evaluación previa por biología molecular, evidenciando que esta prueba rápida fue capaz de detectar la enzima con una alta sensibilidad y especificidad [25].



Figura 3. Cepas de complejo *A. baumannii* negativas para la enzima MCR-1 por el método inmunocromatográfico.

Curiosamente, una investigación de las actividades *in vitro* de varias combinaciones antimicrobianas contra *A. baumannii* resistente a la colistina mostró que las combinaciones más efectivas son colistin-rifampicina y colistina-teicoplanina, lo que indica que la colistina es el componente más común de las combinaciones antimicrobianas contra este microorganismo. De manera similar, la terapia dual con minociclina en combinación con colistina es eficaz para tratar infecciones causadas por *A. baumannii* resistente a la minociclina [26].

La ausencia de la enzima MCR-1 en las cepas estudiadas no indica su ausencia en Venezuela, ya que, el muestreo utilizado fue muy pequeño y todos los aislamientos provenían de un solo laboratorio clínico ubicado en el estado Aragua. La resistencia a la colistina ya ha sido reportada a través de otras investigaciones, como por ejemplo la de Delgado *et al.*, donde detectaron el gen *mcr-1* en dos cepas de *E. coli* aisladas de muestras animal y humana en Cumaná; en consecuencia, estos resultados representan una alerta epidemiológica para el país, ya que su transferencia horizontal a otras bacterias crea escenarios donde las opciones terapéuticas para tratar bacterias MDR se agotan, representando un problema de salud pública [27].

Con base en esto, la implementación de medidas de vigilancia epidemiológica para el complejo *A. baumannii* MDR resulta importante; desde 1999 existe un deterioro del sistema de salud en Venezuela, con una decadencia de la infraestructura y escasez de insumos y medicamentos, entre otros elementos como el déficit de higiene, que aumenta la propagación de microorganismos oportunistas como el complejo *A. baumannii*, así como también el uso indiscriminado de antimicrobianos, incrementando la presión selectiva y a su vez la probabilidad de la transmisión horizontal mediada por plásmidos, que es

realmente difícil de eliminar en las unidades de atención médica una vez que se vuelve endémico [28].

El complejo *A. baumannii* posee gran capacidad para formar biopelículas y adquiere resistencia a los antibióticos rápidamente mediante diversos mecanismos que incluyen bombas de eflujo, cambios en la permeabilidad de la envoltura que influyen en la resistencia a los carbapenémicos, así como modificaciones y/o pérdida de lipopolisacáridos (LPS), lo cual disminuye su sensibilidad a la colistina [29]. Así mismo, es importante resaltar que el aislamiento de los pacientes con infecciones graves por el complejo *A. baumannii* MDR es una de las medidas de abordaje más relevantes, destacando la importancia de la detección de la fuente de infección, la limpieza de los equipos médicos y las superficies del medio ambiente hospitalario, así como el correcto lavado de manos del personal de salud, como mecanismos para evitar la propagación de este microorganismo [30].

Se ha demostrado, que el uso de la combinación ampicilina/sulbactam más ceftazidima/avibactam es una alternativa terapéutica a contemplar en las complicaciones de infecciones del sistema nervioso central por el complejo *A. baumannii* con resistencia extendida (XDR) a colistina [31]. La ceftazidima/avibactam es una combinación de una cefalosporina de 3^{ra} generación (ceftazidima) y un inhibidor de β -lactamasas (avibactam) para ampliar el espectro y potencia antibacteriana. La ceftazidima actúa inhibiendo la síntesis de peptidoglicano de la pared celular bacteriana mediante su adherencia a las proteínas de unión a penicilinas (PBP), lo que conduce a la muerte y lisis de la célula bacteriana. El avibactam, por su parte, es un inhibidor no β -lactámico de β -lactamasas que presenta una excelente actividad frente a bacterias productoras de β -lactamasas de clase A y C, así como algunas del grupo D (OXA), incluidas las β -lactamasas de espectro extendido (BLEE), carbapenemasas tipo KPC y OXA-48, pero no a las de clase B (metalobetalactamasas dependientes de zinc), sin embargo, esta combinación por sí sola, no ha demostrado ser efectiva contra el complejo *A. baumannii* [32].

El sulbactam es un inhibidor irreversible de la actividad hidrolítica de las β -lactamasas; comúnmente se administra en combinación con un antibiótico β -lactámico (ampicilina). Aunque se considera que no posee actividad antimicrobiana por sí solo, se ha demostrado que el sulbactam posee propiedades antimicrobianas, en especial contra el complejo *A. baumannii*, ya que inhibe la PBP3, desencadenando perturbaciones metabólicas, pero su actividad está limitada por la acción de las β -lactamasas [33]. Avibactam en combinación con sulbactam aumenta la susceptibilidad de este último, estableciendo que el avibactam podría inhibir varias de las enzimas más comunes (TEM y ADC) en el complejo *A. baumannii* que afectan la actividad del sulbactam [34].

Por lo antes mencionado, y debido a las limitadas opciones terapéuticas para tratar al complejo *A. baumannii*, la evaluación de la sinergia cualitativa entre CZA y AMS se realizó en 11 cepas MDR del complejo *A. baumannii* seleccionadas al azar, donde se pudo observar que todas las cepas ensayadas presentaron una zona de inhibición en el punto de anclaje de los dos antibióticos (Figura 4 A y B). De estas 11 cepas, cinco fueron productoras de M β L tipo NDM. En un estudio similar, las cepas del complejo *A. baumannii* tratadas con la combinación sulbactam/avibactam mayormente presentaron una disminución de sus CMI en comparación con las que fueron expuestas solo a sulbactam [34].

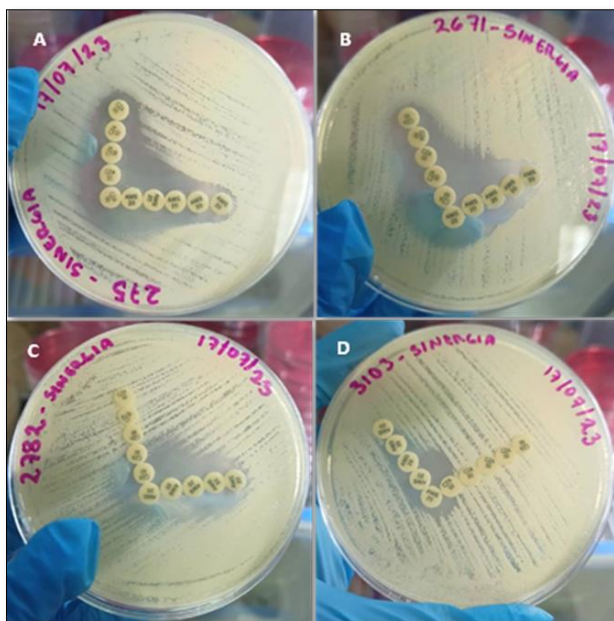


Figura 4. Sinergia cualitativa positiva A y B: entre la combinación de CZA/AMS en cepas del complejo *A. baumannii* resistentes a carbapenémicos. Sinergia cualitativa positiva C y D: entre la combinación de CZA/AMS en cepas del complejo *A. baumannii* resistentes a carbapenémicos productoras M β L NDM.

No obstante, las cinco cepas con M β L tipo NDM que se estudiaron en esta investigación presentaron sinergia cualitativa (Figura 4 C y D), evidenciando ampliación en el halo de inhibición donde interactúan ambos antibióticos; a pesar de ello, el halo formado fue menor que en aquellas cepas analizadas sin mecanismos enzimáticos. Estudios realizados han demostrado sorprendentemente que el 91 % de las cepas de *A. baumannii* productoras de OXA mostraron una CMI igual o inferior a 4 mg/L para la combinación sulbactam/avibactam. Las productoras de NDM mostraron una reducción en las CMI de sulbactam debido a la adición de avibactam, aunque los valores de CMI estuvieron por encima de 4 mg/L para todos menos un aislado. Teniendo en cuenta estos factores, será necesario elaborar regímenes de tratamiento individualizados basados en los resultados de las pruebas de susceptibilidad, el sitio de la infección y el

conocimiento de la epidemiología local de la cepa del complejo *A. baumannii* [35]. De igual forma, la presencia de actividad sinérgica entre sulbactam y avibactam se observó en aislados resistentes a carbapenemas de clase D, independientemente de su susceptibilidad a ampicilina sulbactam. La ausencia de sinergia sólo se detectó en los aislados productores de M β L, porque evaden la actividad del avibactam [34].

Se ha reportado que la AMS es la columna vertebral para el tratamiento del complejo *A. baumannii* MDR en dosis altas, ya que puede ser una terapia efectiva *in vivo* a través del mecanismo de saturación de las PBP en cepas no sensibles a nivel del laboratorio; así mismo, estos resultados respaldan el tratamiento utilizando la combinación de AMS con otros antibióticos, tales como tigeciclina o minociclina [36].

En Venezuela se han incrementado los aislamientos del complejo *A. baumannii* con resistencia a carbapenémicos que además poseen enzimas como las NDM, tal como se observó en esta investigación, donde el 13 % de las cepas MDR eran portadoras de M β L tipo NDM, siendo este un dato relevante a nivel epidemiológico en el estado Aragua, ya que no existen registros de la frecuencia de detección de esta enzima. Además, Venezuela, antes de la pandemia del SARS-Cov-2 presentaba una resistencia a carbapenémicos entre un 40 a 60 %, limitando las opciones terapéuticas efectivas para este patógeno [37]. Es por ello que, en la mayoría de los escenarios a futuro, el tratamiento de las infecciones por el complejo *A. baumannii* será una combinación con un inhibidor de la β -lactamasa con el sulbactam, como por ejemplo el durlobactam, aprobado en el 2023 por la *Food and Drug Administration* (FDA) [38]; sin embargo, el acceso a este nuevo antimicrobiano es limitado en nuestro país.

Se ha demostrado en un ensayo clínico el beneficio de la terapia combinada y la utilización de dosis elevadas de AMS. Los antimicrobianos que se pueden considerar en combinación con dosis altas de AMS son polimixina B, minociclina, tigeciclina o cefiderocol. La fosfomicina y la rifampicina no se recomiendan para la terapia combinada [39].

Es crucial implementar nuevas estrategias terapéuticas para tratar infecciones por el complejo *A. baumannii* MDR. La utilización de nuevos inhibidores como la combinación de CZA/AMS resulta útil para combatir este patógeno, siendo una opción con menos efectos adversos en comparación con el uso de la colistina, ya que reduce la tasa de mortalidad, la estancia hospitalaria y los gastos médicos; los estudios *in vitro* así lo han demostrado. Además, se evita la propagación de mecanismos de resistencia a la colistina. Por ello, es importante realizar estudios con grupos de pacientes evaluando esta combinación *in vivo* para su posterior incorporación en la

práctica clínica, con el fin de conocer su eficacia en infecciones producidas por cepas multirresistentes en Venezuela.

Conflicto de interés

Los autores declaran no tener conflictos de interés en relación con el artículo.

Financiamiento

Esta investigación fue financiada por los autores.

Referencias

- Ramirez MS, Bonomo RA, Tolmasky ME. Carbapenemas: transforming *Acinetobacter baumannii* into a yet more dangerous menace. *Biomolecules*. 2020; 10:720. DOI: [10.3390/biom10050720](https://doi.org/10.3390/biom10050720)
- Yauri-Condor K, Zavaleta Apestegui M, Sevilla-Andrade CR, Villoslado Espinoza C, Vicente Taboada W, Gonzales-Escalante E. Carbapenemasas clase D en aislamientos clínicos de *Acinetobacter baumannii*. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*. 2020; 37:387-8. DOI: [10.17843/rpmesp.2020.372.4747](https://doi.org/10.17843/rpmesp.2020.372.4747)
- Guerra Sarmiento M, Ruíz-Martín-Leyes F, Arzuza-Ortega L, Maestre-Serrano R. Caracterización de bacilos gramnegativos multi-resistentes aislados en pacientes hospitalizados en instituciones de salud de Barranquilla (Colombia). *Rev Chil Infectol*. 2021. 38:189-196. <https://www.scielo.cl/pdf/rci/v38n2/0716-1018-rci-38-02-0189.pdf>
- Martínez Ovejero C. Mecanismos emergentes de resistencia a antibióticos en enterobacterias de origen humano, animal y ambiental [Tesis doctoral]. Madrid, España: Docta Complutense. Universidad Complutense de Madrid; 2017. <https://docta.ucm.es/bitstreams/3916c8f1-50f2-4826-9871-4e7cb62c8636/download>
- Mea HJ, Yong PVC, Wong EH. An overview of *Acinetobacter baumannii* pathogenesis: motility, adherence and biofilm formation. *Microbiol Res*. 2021; 247:126722. DOI: [10.1016/j.micres.2021.126722](https://doi.org/10.1016/j.micres.2021.126722)
- World Health Organization. WHO Bacterial Priority Pathogens List, 2024: bacterial pathogens of public health importance to guide research, development and strategies to prevent and control antimicrobial resistance. Geneva: World Health Organization; 2024. <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/376776/9789240093461-eng.pdf?sequence=1>
- Vilarroig CA. Evolución de la resistencia de la bacteria *Acinetobacter baumannii* al antibiótico colistina en la población de la ciudad de Valencia. Un enfoque desde los modelos basados en agentes [Tesis de maestría]. España: Universidad Politécnica de Valencia; 2021. <http://hdl.handle.net/10251/172775>
- Melgarejo Touchet NL. Resistencia a colistina en enterobacteriales. *Rev Salud Publica Parag*. 2022; 12:48-61. DOI: [10.18004/rspp.diciembre.48](https://doi.org/10.18004/rspp.diciembre.48)
- Matsuoka A Naomi Vargas M, Ymaña B, Soza G, Pons MJ. Resistencia a colistina en cepas de *Klebsiella pneumoniae* multidrogosresistente del período 2015-2018 en un instituto materno perinatal de Lima, Perú. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*. 2020; 37:716-20. DOI: [10.17843/rpmesp.2020.374.5422](https://doi.org/10.17843/rpmesp.2020.374.5422)
- Servicio Antimicrobianos, Laboratorio Nacional de Referencia en Antimicrobianos, INEI-ANLIS “Dr. Carlos G. Malbrán”. Desafíos en los métodos de evaluación de la sensibilidad a polimixinas (colistina/polimixina b). Boletín informativo No. 30. 2017; 30:1-15. <http://antimicrobianos.com.ar/ATB/wp-content/uploads/2017/09/Boletin-PCC-NAC-Nro.30Metodos-de-Evaluacion-Sensibilidad-a-POLIMIXINAS-Sep-2017138>
- López C. y Neyner S. Comparación de métodos para la detección de resistencia al colistín en enterobacterias [Tesis de grado]. Ecuador: Repositorio Institucional Universidad Central del Ecuador; 2022. <https://www.dspace.uce.edu.ec/entities/publication/d0556a80-92d9-401a-a048-9f940d600432>
- Mataraci Kara E, Yilmaz M, Özbek Çelik B. In vitro activities of ceftazidime/avibactam alone or in combination with antibiotics against multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates. *J Glob Antimicrob Resist*. 2018; 17:137-41. DOI: [10.1016/j.jgar.2018.12.004](https://doi.org/10.1016/j.jgar.2018.12.004)
- Servicio Antimicrobianos, Laboratorio Nacional de Referencia en Antimicrobianos, INEI-ANLIS “Dr. Carlos G. Malbrán”. Método de elución de discos de colistina. Argentina: INEI-ANLIS “Dr. Carlos G. Malbrán”; 2017. <http://antimicrobianos.com.ar/ATB/wp-content/uploads/2017/09/Protocolo-Met-de-Eluci%C3%B3n-de-Discos-de-COL-version2-Agosto2017.pdf>
- Servicio Antimicrobianos Laboratorio Nacional de Referencia en Antimicrobianos, INEI-ANLIS “Dr. Carlos G. Malbrán”. Método de predifusión con tabletas Rosco-Neosensitabs. Argentina: INEI-ANLIS “Dr. Carlos G. Malbrán”; 2017. <http://antimicrobianos.com.ar/ATB/wp-content/uploads/2017/09/Protocolo-Predifusion-Tabletas-COL-Rosco-version2-Agosto2017.pdf>
- Servicio Antimicrobianos, Laboratorio Nacional de Referencia en Antimicrobianos, INEI-ANLIS “Dr. Carlos G. Malbrán”. Colistín Drop Test (Método de la gota). Argentina: INEI-ANLIS “Dr. Carlos G. Malbrán”; 2019. <http://antimicrobianos.com.ar/>

- [ATB/wp-content/uploads/2019/06/Protocolo-COLISTIN-DROP-TEST.pdf](#)
16. NG Biotech® Laboratories. NG-Test®/MCR-1. ENO016MCR/Rév.220721. Guipry, France: NG Biotech® Laboratories; 2021. https://ngbiotech.com/amr-doc/Instructions_for_use-NG-Test-MCR-1_v220721.pdf
 17. Servicio Antimicrobianos, Laboratorio Nacional de Referencia en Antimicrobianos, INEI-ANLIS “Dr. Carlos G. Malbrán”. Protocolo de Trabajo Red WHONET Argentina. Argentina: INEI-ANLIS “Dr. Carlos G. Malbrán”; 2021. <http://sgc.anlis.gob.ar/handle/123456789/2374>
 18. Simner PJ, Bergman Y, Trejo M, Roberts AA, Marayan R, Tekle T, et al. Two-site evaluation of the colistin broth disk elution test to determine colistin in vitro activity against gram-negative bacilli. J Clin Microbiol. 2019; 57:e01163-18: DOI: [10.1128/jcm.01163-18](https://doi.org/10.1128/jcm.01163-18)
 19. Pasteran F, Danze D, Menocal A, Cabrera C, Castillo I, Albornoz E, et al. Simple phenotypic tests to improve accuracy in screening chromosomal and plasmid-mediated colistin resistance in gram-negative bacilli. J Clin Microbiol. 2020; 59:e01701-20. DOI: [10.1128/jcm.01701-20](https://doi.org/10.1128/jcm.01701-20)
 20. Rangel L, Zambrano L. Caracterización fenotípica del mecanismo de resistencia a colistina en bacterias gramnegativas multirresistentes en el estado Aragua de diciembre 2021- febrero 2022. [Trabajo de grado]. Venezuela: Universidad de Carabobo; 2022.
 21. Angles-Yanqui E, Chumbes-Pérez J, Huaranga-Marcelo J. Colistina en el tratamiento de infecciones por *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter baumannii* extensivamente resistentes (XDR) en un hospital de tercer nivel. Infectio. 2020; 24:201-7. DOI: [10.22354/in.v24i4.876](https://doi.org/10.22354/in.v24i4.876)
 22. Liu J, Shu Y, Zhu F, Feng B, Zhang Z, Liu L, et al. Comparative efficacy and safety of combination therapy with high-dose sulbactam or colistin with additional antibacterial agents for multiple drug-resistant and extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii* infections: A systematic review and network meta-analysis. J Glob Antimicrob Resist. 2021; 24:136-47. DOI: [10.1016/j.jgar.2020.08.021](https://doi.org/10.1016/j.jgar.2020.08.021)
 23. Chen L, Lin J, Lu H, Zhang X, Wang C, Liu H, et al. Deciphering colistin heteroresistance in *Acinetobacter baumannii* clinical isolates from Wenzhou, China. J Antibiot. 2020; 73:463-70. DOI: [10.1038/s41429-020-0289-2](https://doi.org/10.1038/s41429-020-0289-2)
 24. Tamma PD, Aitken SL, Bonomo RA, Mathers AJ, van Duin D, Clancy CJ. Infectious Diseases Society of America guidance on the treatment of AmpC β -Lactamase-producing Enterobacterales, carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*, and *Stenotrophomonas maltophilia* infections. Clin Infect Dis. 2022; 74:2089-114. DOI: [10.1093/cid/ciab1013](https://doi.org/10.1093/cid/ciab1013)
 25. Fenwick AJ, Bergman Y, Lewis S, Yee R, Uhlemann AC, Cole N, et al. Evaluation of the NG-Test MCR-1 lateral flow assay and EDTA-colistin broth disk elution methods to detect plasmid-mediated colistin resistance among gram-negative bacterial isolates. J Clin Microbiol. 2020; 58:e01823-19. DOI: [10.1128/jcm.01823-19](https://doi.org/10.1128/jcm.01823-19)
 26. Zhang S, Di L, Qi Y, Qian X, Wang S. Treatment of infections caused by carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*. Front Cell Infect Microbiol. 2024; 14:1395260. DOI: [10.3389/fcimb.2024.1395260](https://doi.org/10.3389/fcimb.2024.1395260)
 27. Delgado-Blas JF, Ovejero CM, Abadía-Patiño L, Gonzalez-Zorn B. Coexistence of mcr-1 and blaNDM-1 in *Escherichia coli* from Venezuela. Antimicrob Agents Chemother. 2016; 60:6356-8. DOI: [10.1128/aac.01319-16](https://doi.org/10.1128/aac.01319-16)
 28. Carrillo A. Sistema de salud en Venezuela: ¿un paciente sin remedio? Cad Saude Pública. 2018; 34:e00058517. DOI: [10.1590/0102-311X00058517](https://doi.org/10.1590/0102-311X00058517)
 29. Lee C-R, Lee JH, Park M, Park KS, Bae IK, Kim YB, et al. Biology of *Acinetobacter baumannii*: pathogenesis, antibiotic resistance mechanisms, and prospective treatment options. Front Cell Infect Microbiol. 2017; 7:55. DOI: [10.3389/fcimb.2017.00055](https://doi.org/10.3389/fcimb.2017.00055)
 30. Kumar S, Anwer R, Azzi A. Virulence potential and treatment options of multidrug-resistant (MDR) *Acinetobacter baumannii*. Microorganisms. 2021; 9:2104. DOI: [10.3390/microorganisms9102104](https://doi.org/10.3390/microorganisms9102104)
 31. Lerman D, Barrios C, Salvatierra C, Etcheves C, Cedeño Ramírez Y, Bilesio M, et al. Meningitis posquirúrgica por *Acinetobacter baumannii* multirresistente. Actividad sinérgica in vivo de la asociación sulbactam/avibactam. Prensa med. Argent. 2023; 109:48-52. <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/biblio-1437017>
 32. Asociación Española de Pediatría. Comité de Medicamentos. Pediamecum. Ceftazidima/avibactam. Madrid: Asociación Española de Pediatría; 2020. <https://www.aeped.es/comite-medicamentos/pediamecum/ceftazidimaavibactam>
 33. Urrutia Gómez JA, Rueda Riaño AM, Rojas Páez CA, Silva Rodríguez MA, Méndez Fandiño YR. Eficacia de la colistina en el tratamiento de pacientes adultos con infecciones severas por *Acinetobacter baumannii* XDR en cuidados intensivos. Univ Med. 2016; 57:215-25. DOI: [10.11144/Javeriana.umed57-2.ectp](https://doi.org/10.11144/Javeriana.umed57-2.ectp)
 34. Rodriguez CH, Brune A, Nastro M, Vay C, Famiglietti A. In vitro synergistic activity of the sulbactam/avibactam combination against extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii*. J Med

- Microbiol. 2020; 69:928-31. DOI: [10.1099/jmm.0.001211](https://doi.org/10.1099/jmm.0.001211)
35. Pasteran F, Cedano J, Baez M, Albornoz E, Rapoport M, Osteria J, et al. A new twist: the combination of sulbactam/avibactam enhances sulbactam activity against carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* (crab) isolates. *Antibiotics*. 2021; 10:577. DOI: [10.3390/antibiotics10050577](https://doi.org/10.3390/antibiotics10050577)
36. Bartal C, Rolston KVI, Neshler L. Carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*: colonization, infection and current treatment options. *Infect Dis Ther*. 2022; 11:683-94. DOI: [10.1007/s40121-022-00597-w](https://doi.org/10.1007/s40121-022-00597-w)
37. Manobanda Nata CI, Jaramillo Ruales EK. *Acinetobacter baumannii* complex resistente a los carbapenémicos una revisión en Latinoamérica. *Salud, Ciencia y Tecnología*. 2023; 3:479. DOI: [10.56294/saludcyt2023479](https://doi.org/10.56294/saludcyt2023479)
38. U.S. Food and Drug Administration. La FDA aprueba un nuevo tratamiento para la neumonía causada por ciertas bacterias difíciles de combatir. USA: U.S. Food and Drug Administration; 2023. <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/la-fda-aprueba-un-nuevo-tratamiento-para-la-neumonia-causada-por-ciertas-bacterias-dificiles-de>
39. Tamma PD, Heil EL, Justo JA, Mathers AJ, Satlin MJ, Bonomo RA. Infectious Diseases Society of America 2024 Guidance on the treatment of antimicrobial resistant gram-negative infections. *Clin Infect Dis*. 2024; ciae403. DOI: [10.1093/cid/ciae403](https://doi.org/10.1093/cid/ciae403)
- YV. ORCID: [0000-0002-4891-2928](https://orcid.org/0000-0002-4891-2928)
KP. ORCID: [0009-0004-3274-4255](https://orcid.org/0009-0004-3274-4255)
EP. ORCID: [0009-0003-8511-7565](https://orcid.org/0009-0003-8511-7565)



Este artículo está bajo licencia CC BY-NC-SA 4.0