



**PROGRAMA NACIONAL DE CONTROL DE CALIDAD
EN BACTERIOLOGIA**

INEI-ANLIS "Dr. Carlos G. Malbrán"

BOLETIN INFORMATIVO Nro. 3 - FEBRERO 2016

**Alerta epidemiológico:
EMERGENCIA DE
RESISTENCIA PLASMÍDICA (TRANSFERIBLE)
A COLISTINA/POLIMIXINA B
MCR-1* en Argentina**

**MOBILE COLISTIN RESISTANCE*

El Servicio Antimicrobianos del INEI-ANLIS "Dr. Carlos G. Malbrán" (Laboratorio Nacional de Referencia, LNR) ha confirmado los primeros hallazgos de **Enterobacterias de Argentina portadoras del gen MCR-1** que codifica para resistencia transferible a las polimixinas (colistina y polimixina B).

Gen *mcr-1*:

La emergencia de resistencia a la colistina/polimixina es preocupante, ya que en la práctica clínica se considera uno de los últimos (y a veces únicos) agentes efectivos para el tratamiento de bacterias con resistencia a múltiples antibióticos, como los productores de carbapenemasas (KPC, NDM, OXA-48, etc).

Recientemente, se ha detectado el gen llamado *mcr-1* (“Mobile Colistin Resistance”) que confiere resistencia a colistina/polimixina y que se encuentra localizado en elementos genéticos móviles (plásmidos), por lo que por primera vez, las bacterias han adquirido la capacidad de compartir la resistencia a las polimixinas, extendiendo así la resistencia a otros organismos.

El gen *mcr-1*, codifica para una enzima de la familia de la fosfoetanolamina transferasa que modifica la estructura del Lípido A de la pared bacteriana, impidiendo de esa forma la interacción de la bacteria con las polimixinas, generando resistencia *in vitro* e *in vivo*. El fenotipo de resistencia a colistina/polimixina conferido por *mcr-1* es similar al que producen los mecanismos “clásicos” de resistencia a polipéptidos, de naturaleza cromosómica y por ende, no transferibles. Por el momento, la diferenciación de la naturaleza del mecanismo implicado en la resistencia a polipéptidos (transferible -mediado por *mcr-1* - o no transferible –no mediado por *mcr-1* -) requiere de estudios moleculares.

Emergencia de *mcr-1*:

mcr-1 se informó por primera vez a fines de noviembre de 2015 en China. Según el reporte inicial, el gen *mcr-1* fue hallado en 260 muestras de *Escherichia coli* recuperadas de animales para consumo, alimentos y de muestras clínicas provenientes de pacientes hospitalizados.

Posible origen de *mcr-1*:

Se ha sugerido que la fuente probable de estas nuevas “superbacterias” sería el consumo intensivo de polimixinas en la crianza de animales para la producción de alimentos. En 2012, la Organización Mundial de la Salud (OMS) llamó a limitar el uso de colistina en este ámbito, habida cuenta que unas 12.000 toneladas de este agente se utilizan en la crianza de ganado cada año. La mayor parte del uso de colistina en animales de consumo se registra en China. En Europa, alarmantemente, las polimixinas fueron el quinto antibiótico más utilizado en el uso agrícola en 2013.

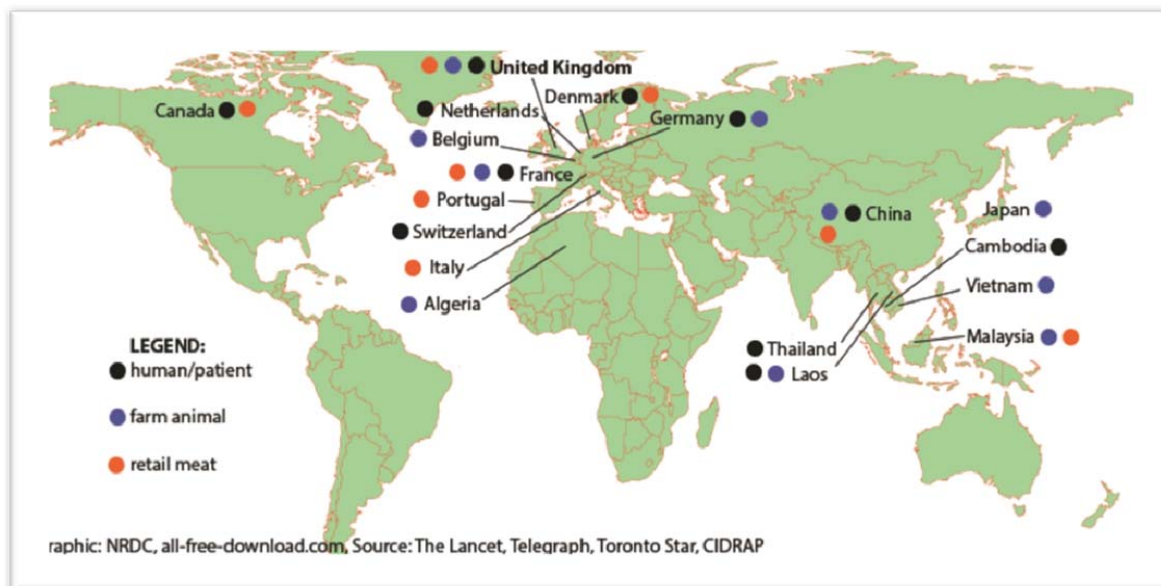
Diseminación global de *mcr-1*:

El hallazgo de *mcr-1* en China rápidamente encendió la alarma en todo el mundo y se inició la búsqueda de este gen en cepas de colección con resistencia a polimixinas.

A la fecha, se ha confirmado *mcr-1* en cuatro continentes (América, Europa, África y Asia), en los siguientes países:

Figura 1: mapa de países con casos confirmados de *mcr-1*.

Fuente: The Lancet; Toronto Star & CIDRAP



Un estudio Holandés, detectó portación gastrointestinal por *E. coli* productores de *mcr-1* en viajeros sanos que retornaron al país bajo luego de visitar destinos en Latino América (Bolivia, Colombia y Perú), sugiriendo que este determinante de resistencia ya se encuentra diseminado en nuestras latitudes.

Los aislamientos más antiguos fueron reportados por Canadá correspondiente a hallazgos del año 2010 y corresponde a *E. coli* recuperada de carne molida decomisada de góndola en expendio.

Especies bacterianas asociadas a *mcr-1*:

mcr-1 ha sido hallado fundamentalmente en *E. coli* pero también en especies de *Salmonella* y *Klebsiella pneumoniae*, lo que confirma que la diseminación de este gen se encuentra muy extendida. Los aislamientos han sido recuperados mayoritariamente de bacterias de animales para consumo y alimentos pero también, aunque en menor medida, de muestras clínicas provenientes de pacientes hospitalizados.

Recientemente, se ha detectado la coproducción de *mcr-1* en un aislamiento de *E. coli* productor de carbapenemasa OXA-48 (muestra clínica, Canadá), mientras que en China se reporta *mcr-1* un aislamiento de *E. coli* productor de carbapenemasa NDM-9 (corte de pollo en expendio) y en dos *K. pneumoniae* productores de carbapenemasa NDM-5 (herida quirúrgica y líquido peritoneal, de sendos pacientes hospitalizados).

ARGENTINA, TAMIZAJE Y DETECCIÓN DE *mcr-1*:

Atento a la rápida diseminación de *mcr-1*, a fines de diciembre de 2015, el LNR validó el método de PCR para la detección de *mcr-1*. Se inició un estudio retrospectivo de los aislamientos clínicos de bacilos Gram negativos resistentes a polimixinas que fueran oportunamente (2012- 2016) remitidos al LNR por diversas Instituciones del país para su confirmación fenotípica.

A la fecha, en Argentina se han confirmado 9 cepas clínicas de Enterobacterias (*E. coli*) portadoras de *mcr-1*

1. Origen y características epidemiológicas de cepa productoras de *mcr-1* en Argentina:

Los aislamientos confirmados a la fecha corresponden a *E. coli*. Han sido recuperadas de distintas fuentes de infección de pacientes (Tabla 1) que consultaron 6 Hospitales de 3 ciudades distintas y distantes del país. En un hospital (CABA) se detectaron 4 casos.

Tabla 1. Características epidemiológicas de cepas *mcr-1*, Argentina

Microorganismo	Fecha	Sitio aislamiento	Ciudad/ Provincia	Número acumulativo de Hospitales	Tipo clonal (PFGE)
<i>E. coli</i> (1)	Jul. 2012	No remitido	CABA	1	A
<i>E. coli</i> (2)	Sep. 2012	Orina	Córdoba	2	B
<i>E. coli</i> (3)	Nov. 2013	Abdominal	CABA	3	C
<i>E. coli</i> (4)	Nov. 2013	Sangre	CABA	3	D
<i>E. coli</i> (5)	Mar. 2015	Orina (sonda)	CABA	3	E
<i>E. coli</i> (6)	Abr. 2015	Orina (sonda)	CABA	3	F
<i>E. coli</i> (7)	Jul. 2015	Hueso	Mendoza	4	G
<i>E. coli</i> (8)	Nov. 2015	Sangre	Mendoza	5	H
<i>E. coli</i> (9)	Ene. 2016	Próstata (absceso)	CABA	6	I

Por el momento, dado que la reexaminación de los casos remitidos al LNR aún continúa en curso, el aislamiento más antiguo en nuestro país corresponde a un hallazgo del año 2012.

Todos los aislamientos productores de *mcr-1* pertenecieron a distintos tipos clonales (PFGE).

2. Sensibilidad a los polipéptidos de cepas *mcr-1* en Argentina:

Las pruebas de sensibilidad realizadas en el LNR mostraron que todas las metodologías disponibles en nuestro país fueron capaces de categorizar correctamente como resistentes* a colistina las cepas productoras de *mcr-1* (Tabla 2), a pesar de algunas diferencias observadas en los valores absolutos de las CIMs obtenidas.

*Habida cuenta que CLSI no dispone de puntos de corte para la interpretación de las pruebas de sensibilidad por dilución para polimixinas en Enterobacterias, los ensayos se interpretaron con los sugeridos por EUCAST, ed. 2016. (http://www.eucast.org/clinical_breakpoints/):

Sensible: ≤ 2 $\mu\text{g/ml}$; Resistente: ≥ 4 $\mu\text{g/mL}$

Tabla 2. Características fenotípicas frente a polipéptidos de cepas *mcr-1*, Arg.

Microorg.	COLISTINA							POLIMIXINA B	
	DISCO (10 ug)	PRE-DIFUSION TABLETAS	ETEST	VITEK 2C	PHOENIX	SENSITITRE	AGAR DIL.	DISCO (300U)	AGAR DIL.
<i>E. coli</i> (1)	9	no halo	6	8	4	≥ 4	8	12	8
<i>E. coli</i> (2)	7	no halo	16	≥ 16	> 4	≥ 4	16	13	16
<i>E. coli</i> (3)	10	no halo	6	8	> 4	≥ 4	8	14	16
<i>E. coli</i> (4)	11	no halo	4	8	4	≥ 4	8	13	8
<i>E. coli</i> (5)	9	no halo	4	8	4	≥ 4	8	12	8
<i>E. coli</i> (6)	10	no halo	4	8	4	≥ 4	8	12	8
<i>E. coli</i> (7)	11	no halo	4	8	4	≥ 4	8	13	8
<i>E. coli</i> (8)	7	no halo	6	8	> 4	≥ 4	8	12	8
<i>E. coli</i> (9)	11	no halo	4	8	> 4	≥ 4	8	12	8

Seis de las 9 cepas presentaron halo a colistina ≤ 10 mm, que según estudios de correlación realizados en el LNR, se corresponde con valores de CIM de resistente para este polipéptido (ver más abajo). Ninguna cepa mostro halos ≥ 14 mm que se correlaciona con sensibilidad por CIM. Por el contrario, el disco de POL resultó un pobre predictor de la resistencia a esta droga.

3. Sensibilidad a otros antimicrobianos en cepas *mcr-1* en Argentina: Se detectó la presencia de BLEE en 4/9 cepas *mcr-1* positivas. Ningún aislamiento resultó productor de carbapenemasa. Las cepas mostraron amplia sensibilidad a agentes no beta-lactámicos, siendo las fluorquinolonas los antibióticos que se presentaron como resistentes en la gran mayoría de los casos.

Tabla 3. Características fenotípicas de cepas *mcr-1*, Arg.

Microorg.	Producción de BLEE (tipo de beta-lactamasa)	No sensible (resistente o intermedio)	MDR	XDR
<i>E. coli</i> (1)	NO	TET, TMS, NAL, CIP, FOS	SI	NO
<i>E. coli</i> (2)	NO	AMP, C1G, NIT, MIN, TMS, NAL, CIP, FOS	SI	NO
<i>E. coli</i> (3)	SI	AMS, GEN, MIN, NAL, CIP Penicilinas, cefalosporinas y monobactames	SI	NO
<i>E. coli</i> (4)	NO	AMP, NAL, CIP	NO	NO
<i>E. coli</i> (5)	NO	C1G, NAL, CIP	NO	NO
<i>E. coli</i> (6)	SI (CTXM-grupo 2)	AMS, TMS, GEN Penicilinas, cefalosporinas y monobactames	SI	NO
<i>E. coli</i> (7)	SI (CTXM-grupo 1)	AMS, CMP, GEN, MIN, NAL, CIP Penicilinas, cefalosporinas y monobactames	SI	NO
<i>E. coli</i> (8)	NO	AMP, AMS, CMP, NAL, CIP	SI	NO
<i>E. coli</i> (9)	SI (CTXM-grupo 9)	GEN, MIN, NAL, CIP Penicilinas, cefalosporinas y monobactames	SI	NO

BLEE= beta lactamasa de espectro extendido

AMP: ampicilina; AMS: ampicilina/sulbactama; C1G: cefalosp. 1^a gen.; CIP: ciprofloxacina; CMP: cloranfenicol; FOS: fosfomicina; GEN: gentamicina; MIN: minociclina; NAL: ác. Nalidíxico; TET: tetraciclina; TMS: trimetoprima/sulfametoxazol. MDR: multi-resistencia. XDR: resistencia extrema.

4. Sugerencias para la detección de cepas resistentes a polipéptidos mediante métodos fenotípicos.

Todos los métodos de dilución disponibles en el país son aptos para detectar la resistencia a colistina producto de la adquisición del gen *mcr-1*. Del mismo modo, la pre-difusión con tabletas categorizó como resistentes todas las cepas productoras de *mcr-1*. El método de difusión no cuenta con puntos de corte para polipéptidos en Enterobacterias. Sin embargo, según estudios realizados en el LNR, aislamientos con halos ≤ 10 mm para COL se asociaron con alta confianza con CIMes en la categoría de resistentes. Mientras que cepas con halos ≥ 14 mm se corresponden con una CIM sensible. Las cepas con halos entre 11-13 mm requieren definición por CIM.

Estrategias de vigilancia: colistina no es habitualmente incluida para infecciones de inicio en la comunidad (como por ejemplo las infecciones del tracto urinario en pacientes ambulatorios) donde ha emergido *mcr-1* o en cepas de otros orígenes con amplia sensibilidad a múltiples familias de antimicrobianos (como se observa para la serie de cepas incluidas en este estudio).

Por tal motivo, para los usuarios del método de difusión, en especial en aquellas Instituciones o Regiones en donde se ha detectado circulación de *mcr-1* (Tabla 1), se sugiere incluir el disco de colistina según se indica a continuación:

INFECCIONES URINARIAS NO COMPLICADAS

Antibiograma mínimo

1. Ampicilina
 2. Ampicilina/sulbactama
 3. Trimetoprima/sufametoxazol
 4. Ciprofloxacina
 5. Nitrofurantoina
 6. Ac. Nalidíxico
 7. Cefazolina
 - 8. Colistina (en el medio de la placa)***
-

*Sensible: ≥ 14 mm; Resistente: ≤ 10 mm. Halos de 11 – 13 mm, requieren definición por CIM.

5. Criterios de derivación al LNR para confirmación molecular de *mcr-1*

Los siguientes fenotipos deberán ser derivados al LNR para la confirmación molecular de *mcr-1*:

- ***E. coli* con CIM a colistina ≥ 4 µg/mL o halo ≤ 10 mm.**
- **Cualquier Enterobacteria con resistencia adquirida a colistín (CIM a colistina ≥ 4 µg/mL o halo ≤ 10 mm) sin multi-resistencia asociada (distinta de la intrínseca del germen)**
- ***Pseudomonas aeruginosa* o *Acinetobacter* spp. con CIM a colistina ≥ 4 µg/mL**

Estos criterios serán actualizados a medida que se avance en el entendimiento de la epidemiología local.

Descargue la planilla de derivación en
<http://antimicrobianos.com.ar/category/algoritmos-manuales-protocolos/>

CONSIDERACIONES FINALES

Hasta tanto se disponga de más información, el hallazgo de cepas productoras de *mcr-1* debe ser considerado de alto riesgo epidemiológico. Se requiere del máximo esfuerzo de todos los integrantes de los equipos de salud, en especial del Comité de Control de Infecciones para evitar la diseminación de este tipo de resistencias transferibles. _____

PRONTA DERIVACION AL LNR para confirmación molecular del mecanismo involucrado en la resistencia a colistina.

5. Próximos pasos

- Se continuará con el estudio retrospectivo de los aislamientos clínicos de bacilos gram negativos resistentes a polimixinas que fueran oportunamente remitidos al LNR para su confirmación fenotípica.
- El LNR ha añadido el gen *mcr-1* a su rutina de vigilancia basada en pruebas de PCR para los aislamientos que se reciban prospectivamente.
- Se compartirán los protocolos y los procedimientos de PCR mediante los canales habituales de comunicación con los integrantes de las Redes de Laboratorios dentro del territorio Argentino como así también la Red Latino Americana para la Vigilancia de Resistencia

→ Protocolo de PCR disponible en:
<http://antimicrobianos.com.ar/2016/01/deteccion-de-resistencia-transferible-a-colistin-gen-mcr-1>.

- Se comunicarán los avances y novedades a medida que el LNR vaya generando nueva información sobre este tópico.

Servicio ANTIMICROBIANOS

LNR en Resistencia a los Antimicrobianos

INEI-ANLIS “Dr. Carlos G. Malbrán”- MSAL Argentina

fpasteran@anlis.gov.ar, fpasteran@gmail.com, acorso@anlis.gov.ar

www.antimicrobianos.com.ar

Bibliografía:

1. Yi-Yun Liu y cols. Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. *Lancet Infectious Diseases*; 2015. [http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099\(15\)00424-7](http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099(15)00424-7).
2. Abiola Olumuyiwa Olaitan y cols. Dissemination of the mcr-1 colistin resistance gene. *Lancet Infectious Diseases*; 2015. [http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099\(15\)00540-X](http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099(15)00540-X)
3. Herman Tse y cols. Dissemination of the mcr-1 colistin resistance gene. *Lancet Infectious Diseases*; 2015. [http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099\(15\)00532-0](http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099(15)00532-0).
4. Maris S Arcilla y cols. Dissemination of the mcr-1 colistin resistance gene. *Lancet Infectious Diseases*; 2015. [http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099\(15\)00541-1](http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099(15)00541-1).
5. Hattie E Webby cols. Dissemination of the mcr-1 colistin resistance gene. *Lancet Infectious Diseases*; 2015. [http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099\(15\)00538-1](http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099(15)00538-1).
6. H. Hasman y cols. Detection of mcr-1 encoding plasmid-mediated colistin-resistant *Escherichia coli* isolates from human bloodstream infection and imported chicken meat, Denmark 2015. *Euro Surveill.* 2015 10;20(49). doi: 10.2807/1560-7917.ES.2015.20.49.30085.
7. First detection of plasmid-mediated colistin resistance (mcr-1 gene) in food and human isolates in England and Wales. *Public Health England* (on line). 2015.
8. Linda Falgenhauer y cols. Colistin resistance gene mcr-1 in extended- spectrum β -lactamase- producing and carbapenemase-producing Gram-negative bacteria in Germany. *Lancet Infectious Diseases*; 2016 [http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099\(16\)00009-8](http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099(16)00009-8).
9. Surbi Malhotra-Kumar y cols. Colistin resistance gene mcr-1 harboured on a multidrug resistant plasmid. *Lancet Infectious Diseases*; 2016. [http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099\(16\)00012-8](http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099(16)00012-8).
10. Nicole Stoesser y cols. Colistin resistance gene mcr-1 and pHNSHP45 plasmid in human isolates of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. *Lancet Infectious Diseases*; 2016. [http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099\(16\)00010-4](http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099(16)00010-4).
11. Marisa Haenni y cols. Co-occurrence of extended spectrum β lactamase and MCR-1 encoding genes on plasmids. *Lancet Infectious Diseases*; 2016. [http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099\(16\)00007-4](http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099(16)00007-4).
12. Satowa Suzuki y cols. Investigation of a plasmid genome database for colistin- resistance gene mcr-1. *Lancet Infectious Diseases*; 2016. [http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099\(16\)00008-6](http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099(16)00008-6).
13. Laurent Poirel y cols. Plasmid-mediated carbapenem and colistin resistance in a clinical isolate of *Escherichia coli*. *Lancet Infectious Diseases*; 2016 [http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099\(16\)00006-2](http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099(16)00006-2).
14. Surbhi Malhotra-Kumar y cols. Colistin-resistant *Escherichia coli* harbouring mcr-1 isolated from food animals in Hanoi, Vietnam. *Lancet Infectious Diseases*; 2016 [http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099\(16\)00014-1](http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099(16)00014-1).
15. Mauro Petrillo y cols. Possible genetic events producing colistin resistance gene mcr-1. *Lancet Infectious Diseases*; 2016 [http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099\(16\)00005-0](http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099(16)00005-0).
16. Hong Du y cols. Emergence of the mcr-1 colistin resistance gene in carbapenem-resistant Enterobacteriaceae. *Lancet Infectious Diseases*; 2016 [http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099\(16\)00056-6](http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099(16)00056-6).
17. Xu Yao y cols. Carbapenem-resistant and colistin-resistant *Escherichia coli* co-producing NDM-9 and MCR-1. *Lancet Infectious Diseases*; 2016 [http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099\(16\)00057-8](http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099(16)00057-8).