

ORIGINAL BREVE

ENTEROBACTERIALES PRODUCTORES DE BETA-LACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO PORTADORES DEL GEN *mcr-1* EN LIMA, PERÚ

Katherine Yauri-Condor ^{1,a}, Milagros Zavaleta Apestegui ^{1,b}, Carlos Raúl Sevilla-Andrade ^{1,2,a}, Julia Piscocoya Sara ^{2,c,d}, Claudia Villoslado Espinoza ^{3,c,e}, William Vicente Taboada ^{3,4,c,e}, Edgar Gonzales-Escalante ^{1,5,a,f}

¹ Centro de Investigaciones Tecnológicas, Biomédicas y Medioambientales - CITBM, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú.

² Instituto de Medicina Tropical «Daniel A. Carrión», Departamento Académico de Microbiología Médica, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú.

³ Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas, Lima, Perú.

⁴ Laboratorios Unilabs, Lima, Perú.

⁵ Laboratorio de Resistencia Bacteriana, Instituto de Investigaciones en Bacteriología y Virología Molecular (IBaViM), Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina.

^a Tecnóloga/o médica/o; ^b bióloga molecular; ^c médica/o cirujana/o; ^d magíster en Epidemiología; ^e especialista en Patología Clínica; ^f magíster en Microbiología.

RESUMEN

Se analizó la presencia del gen *mcr-1* en 165 enterobacteriales productores de betalactamasas de espectro extendido (EP-BLEE) recuperados en 2017 de sangre (40), orina (57), secreciones respiratorias bajas (12) e hisopados rectales (56) de pacientes hospitalizados en el Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas (Perú). La identificación y la susceptibilidad antimicrobiana se determinaron por el sistema automatizado Phoenix M50; la resistencia a colistina por Colistin Agar-Spot (CAS); la detección de *mcr-1* por el método fenotípico de predifusión de colistina e inhibición con EDTA (CPD-E) y por reacción en cadena de la polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés). De los 165 EP-BLEE 25 fueron positivos para *mcr-1* por el método CPD-E y se confirmó por PCR. Por el método CAS, 20/165 fueron resistentes a colistina. Además, mostraron resistencia a las fluoroquinolonas y a la gentamicina, y permanecieron sensibles a la amikacina; dos aislamientos presentaron metalocarbapenemasas. La obtención de datos sobre la resistencia a antimicrobianos considerados de última línea (colistina) es crucial para establecer medidas para su control.

Palabras clave: Enterobacteriaceae; beta-Lactamasas; Colistina; Farmacorresistencia Microbiana. (Fuente: DeCS BIREME)

EXTENDED-SPECTRUM BETA-LACTAMASE-PRODUCING ENTEROBACTERIALES CARRYING THE *mcr-1* GENE IN LIMA, PERU

ABSTRACT

We analyzed the presence of the *mcr-1* gene in 165 extended-spectrum beta-lactamase-producing enterobacteriales (ESBL-PE) obtained during 2017, from blood (40), urine (57), lower respiratory secretions (12) and rectal swabs (56) of patients hospitalized in the Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas (Peru). Antimicrobial identification and susceptibility were determined by the Phoenix M50 automated system; colistin resistance by Colistin Agar-Spot (CAS); *mcr-1* detection by colistin pre-diffusion and inhibition with EDTA test (CPD-E) and by polymerase chain reaction (PCR). We found that from the 165 ESBL-PE, 25 were positive for *mcr-1* by the CPD-E method and confirmed by PCR. Colistin resistance was found in 20/165 by using the CAS method. Additionally, they showed resistance to fluoroquinolones and gentamicin, while remaining sensitive to amikacin; two isolates presented metallo-carbapenemas. Obtaining data on resistance to last-line antimicrobials (colistin) is crucial to establish measures for its control.

Keywords: Enterobacteriaceae; beta-Lactamases; Colistin; Drug Resistance, Microbial. (Source: MeSH NLM)

Citar como: Yauri-Condor K, Zavaleta Apestegui M, Sevilla-Andrade CR, Piscocoya Sara J, Villoslado Espinoza C, Vicente Taboada W, et al. Enterobacteriales productores de betalactamasa de espectro extendido portadores del gen *mcr-1* en Lima, Perú. Rev Peru Med Exp Salud Publica. 2020;37(4):711-5. doi: <https://doi.org/10.17843/rpmesp.2020.374.5832>.

Correspondencia: Edgar Gonzales Escalante; Calle José Santos Chocano 199, Ciudad Universitaria, Bellavista, Callao; egones_5@hotmail.com

Recibido: 19/05/2020
Aprobado: 09/09/2020
En línea: 05/11/2020

INTRODUCCIÓN

La diseminación mundial de bacterias gramnegativas multidrogoresistentes (MDR) y extremadamente resistentes a los antimicrobianos (XDR), incluidos los enterobacteriales productores de carbapenemasas (EPC), ha llevado a la reinsertión de colistina como terapia de

último recurso; este antibiótico interactúa directamente con el lipopolisacárido de la membrana externa ⁽¹⁾. Los principales mecanismos de resistencia implican la modificación del lípido A, mediados por mutaciones en genes del sistema regulador PhoPQ-PmrAB, incluso durante el tratamiento en microorganismos clínicamente relevantes como *Klebsiella pneumoniae* ^(2,3). En 2015, se describió un mecanismo de resistencia a la colistina mediada por plásmidos (PMCR, por sus siglas en inglés), relacionado con el gen *mcr-1* (Mobile Colistin Resistance) entre enterobacteriales aislados de animales y humanos en China ⁽⁴⁾, este codifica una fosfoetanolamina transferasa que modifica el blanco de colistina, mediante la adición de fosfoetanolamina, lo que reduce la afinidad por la colistina ⁽⁵⁾.

Diversos estudios han demostrado una distribución mundial de *mcr1*, especialmente en *Escherichia coli*, y una presencia ocasional en otras especies bacterianas ⁽⁶⁾. Al igual que con otros genes de resistencia, se han detectado diferentes variantes alélicas de *mcr-1* (*mcr-2*, *mcr-3*, *mcr-4*, *mcr-5*, *mcr-6*, *mcr-7*, *mcr-8*, *mcr-9* y *mcr-10*) ^(5,6). En América del Sur, se ha reportado la presencia de genes *mcr-1* en varios países, a partir de aislamientos de humanos, animales y alimentos ⁽⁷⁻⁹⁾. En 2016, la Organización Mundial de la Salud (OMS) recomendó implementar y fortalecer la vigilancia e investigación epidemiológica de la PMCR ⁽¹⁰⁾. En el Perú, hasta el momento se ha informado la presencia de *mcr-1* en aislamientos de *E. coli* de origen clínico ^(11,12).

En ese sentido, como parte del proyecto «Vigilancia epidemiológica de bacterias resistentes en infecciones asociadas a la atención en salud», se plantea este estudio con el objetivo de conocer los enterobacteriales productores de betalactamasa de espectro extendido (EP-BLEE) portadores del gen *mcr-1* en el Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas (INEN) del Perú.

EL ESTUDIO

Se realizó un estudio descriptivo. Entre enero y diciembre de 2017, se recolectaron 165 aislamientos consecutivos únicos de EP-BLEE, entre *Escherichia coli* (112), *Klebsiella pneumoniae* (41), *Enterobacter cloacae* (5), *Proteus mirabilis* (4), *Klebsiella oxytoca* (2) y *Klebsiella ozaneae* (1), recuperados de muestras de sangre (40), orina (57), secreciones respiratorias bajas (12) e hisopados rectales (56) de pacientes hospitalizados en el INEN.

La identificación y susceptibilidad antimicrobiana se realizó con el sistema automatizado Phoenix M50 y la confirmación de BLEE con el sistema BD-Expert (BD Diagnostics, Sparks, MD), la interpretación se realizó siguiendo las recomendaciones del *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) ⁽¹³⁾. La detección de la resistencia a la colistina se realizó por el método de tamizaje Colistin Agar-Spot (CAS) (Agar Mueller-Hinton [Merck, Alemania]; sulfato de colistina sulfa-

MENSAJES CLAVE

Motivación para realizar el estudio: La resistencia a los fármacos considerados de última línea frente a bacterias multidrogasresistentes (MDR) es motivo de preocupación. Es necesario investigar la resistencia a la colistina en enterobacteriales productores de betalactamasa de espectro extendido (EP-BLEE) para conocer la realidad de este tipo de microorganismos en nuestro medio.

Principales hallazgos: De los aislamientos de EP-BLEE, el 15,2% fueron positivos para el gen *mcr-1*, presentaron resistencia acompañante a fluoroquinolonas y gentamicina, y permanecieron sensibles a la amikacina; dos de estos aislamientos eran productores de metalocarbenemasas.

Implicancias: Los resultados de este estudio muestran la importancia del relevamiento de datos sobre la resistencia a la colistina mediada por plásmidos en MDR, lo cual respalda la necesidad de la implementación de estudios de epidemiología molecular para su control y se evite su diseminación en el ámbito hospitalario.

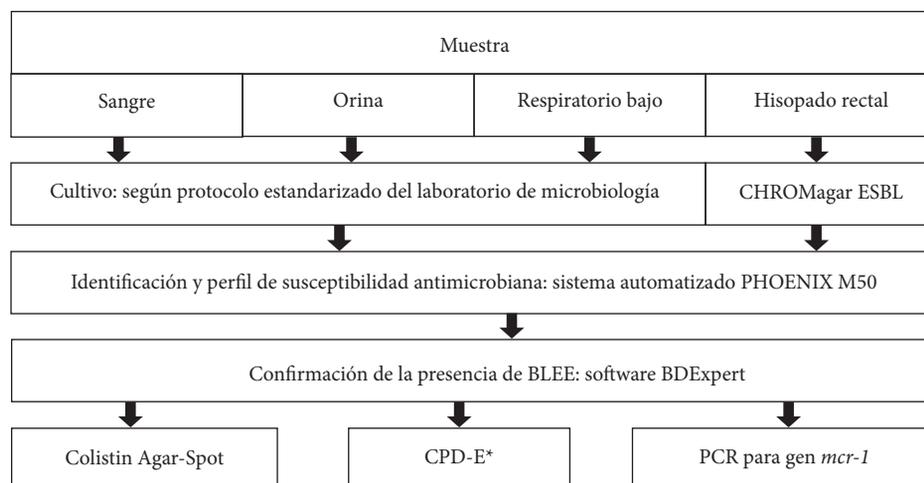
to [Sigma-Aldrich, Alemania]), desarrollado por el Servicio de Antimicrobianos, INEI ANLIS «Dr. Carlos G. Malbrán» ⁽¹⁴⁾. Además, se realizó el método fenotípico de predifusión de colistina e inhibición con el ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) (CPD-E) (Agar Mueller-Hinton [Merck, Alemania]; discos de colistina 10 µg [Oxoid, Inglaterra]; discos de EDTA/SMA 372/900 µg [Britania, Argentina]), descrito por Yauri *et al.* ⁽¹⁵⁾, para la detección del gen *mcr*.

Se usó ADN bacteriano total como molde para la detección molecular, y esta se llevó a cabo en el laboratorio de Epidemiología Molecular y Genética del Instituto de Medicina Tropical «Daniel A. Carrión» del Centro de Investigaciones Tecnológicas, Biomédicas y Medioambientales - CITBM, de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Para la identificación de la presencia de genes de resistencia (*mcr-1*, *bla*_{CTX-M}, *bla*_{NDM}, y *bla*_{KPC}) se utilizó la reacción en cadena de la polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés) como se ha descrito anteriormente ^(4,16,17) (Figura 1).

El presente reporte se ha desarrollado como parte del estudio de los Círculos de Investigación en Ciencia y Tecnología del Fondo Nacional de Desarrollo Científico, Tecnológico y de Innovación Tecnológica (FONDECYT), aprobado por el Departamento de Investigación del INEN. El estudio sigue los lineamientos de las buenas prácticas y la ética en investigación biomédica. Se reportan frecuencias absolutas y relativas de las variables de interés. Se utilizó el programa Microsoft Excel para el análisis descriptivo.

HALLAZGOS

De los 165 aislamientos de EP-BLEE, 25 (15,2%) dieron positivo por el gen *mcr-1*; 20 (12,1%) fueron resistentes a la colistina por el método de tamizaje CAS. La detección fe-



*CPD-E: predifusión de colistina e inhibición con EDTA.

Figura 1. Flujograma de la detección de enterobacteriales productoras de betalactamasas de espectro extendido portadoras del gen *mcr-1*.

notípica del *mcr* con el método CPD-E tuvo 100% de correlación con el método genotípico (25 positivos). La presencia del gen *mcr-1*, según especie, se dio de la manera siguiente: *E. coli* (18), *K. pneumoniae* (4), *E. cloacae* (2) y *K. oxytoca* (1). Según el tipo de muestra, el *mcr-1* se detectó más en los aislamientos provenientes de hisopados rectales (11/25) y en la sangre (9/25) (Tabla 1).

Además, el perfil de susceptibilidad de las EP-BLEE portadoras del gen *mcr-1* mostraron resistencia a las fluoroquinolonas y a la gentamicina, y permanecieron sensibles a la amikacina. Cabe resaltar que dos aislamientos de *K. pneumoniae* presentaron resistencia a los carbapenémicos por la presencia de metalcarbapenemasas (Nueva Delhi Metallo beta-lactamasa [NDM, por sus siglas en inglés]) (Figura 2).

DISCUSIÓN

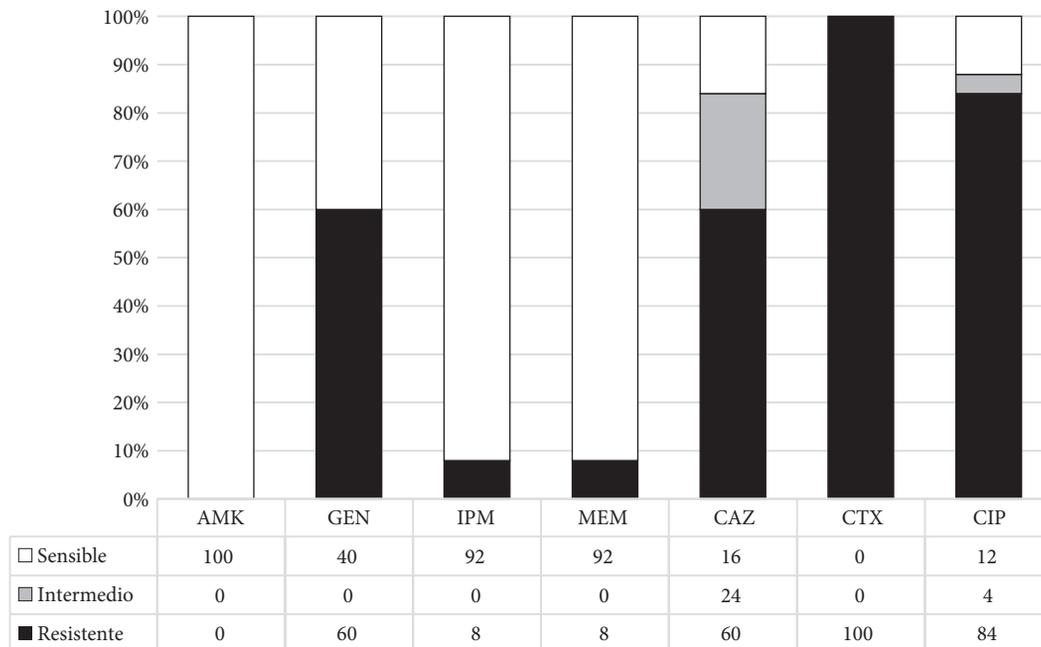
La presencia de PMCR a causa del gen *mcr-1* está ampliamente distribuida en todo el mundo y en algunos casos se

encuentra relacionado con otros marcadores de resistencia, como las betalactamasas (BLEE o carbapenemasas) (2,7,11,18-20). En nuestro estudio, la presencia del gen *mcr-1* en EP-BLEE fue del 15,2% de aislamientos recuperados de diferentes tipos de muestra de infecciones y colonizaciones (portadores) en pacientes hospitalizados. En 2017, Ugarte *et al.* (12) realizaron el primer reporte en el Perú sobre *mcr-1* en siete aislamientos de *E. coli* recuperados a partir de cultivos de orina de pacientes comunitarios. En 2019, Deshpande *et al.* (11) informaron tres aislamientos de *E. coli* productores de *mcr-1* a partir de infecciones de sangre y piel recuperados en 2016 en nuestro país, uno de los aislamientos era productor de BLEE (*bla*_{CTX-M-55}).

La presencia de enterobacteriales productores de betalactamasas portadores del gen *mcr-1* se encuentran en aumento en la región (18-20), no solo coproductores de BLEE, sino también de carbapenemasas, como se observó en dos de nuestros aislamientos de *K. pneumoniae* MDR, con resistencias que van desde los betalactámicos (CTX-M, NDM), fluoroquinolonas,

Tabla 1. Distribución de aislamientos de enterobacteriales productoras de betalactamasas de espectro extendido portadoras del gen *mcr-1* por tipo de muestra y procedencia.

Procedencia	Tipo de muestra				Total
	Sangre	Orina	Secreciones respiratorias bajas	Hisopado rectal	
Abdomen	1	1	1	-	3
Ginecología	-	1	-	-	1
Medicina oncológica	3	1	-	10	14
Pediatría oncológica	4	1	-	-	5
Tórax y mama	-	-	-	1	1
Urología	1	-	-	-	1



AMK: amikacina; GEN: gentamicina; IPM: imipenem; MEM: meropenem; CAZ: ceftazidima; CTX: cefotaxima; CIP: ciprofloxacino.

* 22 aislamientos fueron portadores de genes *bla_{CTX-M}*, y 2 aislamientos fueron además portadores de genes *bla_{NDM}*.

Figura 2. Perfil de susceptibilidad a los antimicrobianos de las enterobacteriales productoras de betalactamasas de espectro extendido portadoras del gen *mcr-1* (n = 25)*.

gentamicina e incluso colistina, que es considerada un antibiótico de último recurso frente a bacterias MDR, quedando solo la amikacina como alternativa terapéutica.

El método de tamizaje CAS presenta una concordancia del 99,5% comparada con el método microdilución en caldo, considerado como el método de referencia para la determinación de resistencia a la colistina. En nuestro estudio, se pudo detectar resistencia a la colistina en 17/25 aislamientos productoras de *mcr-1*, probablemente debido a que estos aislamientos presentaban una concentración mínima inhibitoria (CMI) <3 µg/mL, que es la concentración de colistina que utiliza el método de tamizaje CAS (14).

Un aislamiento de *K. pneumoniae* catalogado como resistente a la colistina no portaba el gen *mcr-1*; esta resistencia a la colistina podría estar relacionada con mutaciones en genes del sistema regulador PhoPQ-PmrAB (2,3); o a la presencia de variantes alélicas del gen *mcr* no investigadas en este estudio (5,6). Un dato que nos parece importante mencionar es que desde 2020, el CLSI cambió los puntos de corte para la interpretación de colistina en enterobacteriales, *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter* spp. quedando solo las categorías de intermedio (≤2 µg/mL) y resistente (≥4 µg/mL); y dejando como metodologías aceptables la Microdilución en caldo para colistina (BMD), prueba de colistina en agar (CAT, por sus siglas en inglés) y elución de disco de colistina en caldo (CBDE, por sus siglas en inglés) (13).

El método CPD-E (15), basado en la característica de la metaloproteína dependiente de zinc de la enzima fosfo-

tanolamina transferasa codificada por el gen *mcr-1*, que le permite ser inhibida por quelantes como el EDTA, tuvo una excelente correlación con los aislamientos portadores del gen *mcr-1*, demostrando ser una buena alternativa fenotípica para la detección de productores de MCR.

La presencia del gen *mcr-1* en aislamientos clínicos MDR causantes de infecciones es preocupante, ya se ha demostrado la presencia gastrointestinal de bacterias con este gen en el ambiente hospitalario o comunitario (10). En nuestro estudio, la frecuencia de colonizados con EP-BLEE portadores del gen *mcr-1* fue del 44%; esta colonización es muy peligrosa, ya que existe el riesgo de que pueda diseminarse, a través de plásmidos, a otras cepas virulentas o clones epidémicos (10).

Este estudio presenta algunas limitaciones que debemos mencionar. Los resultados obtenidos corresponden a una colección de aislamientos MDR (productores de BLEE) de una institución de salud especializada; no se pueden extrapolar los resultados a otras instituciones. Es necesario evaluar la presencia del gen *mcr-1* con un número mayor de aislamientos no MDR de diferentes centros hospitalarios para conocer el impacto real de este marcador de resistencia en nuestro país. Además, no se analizaron variantes alélicas distintas del gen *mcr-1* y otras causas de resistencia a colistina, como mutaciones en los genes del sistema regulador del lípido A de la membrana bacteriana.

En conclusión, la recolección de datos sobre resistencia bacteriana a los antimicrobianos considerados de última línea

es crucial para establecer medidas acordes a la realidad local y compararlas a nivel regional y mundial. A pesar de que nuestros resultados muestran el panorama de un solo centro, la aparición de aislamientos MDR con resistencia a la colistina, respalda la necesidad de implementar estudios de epidemiología molecular para prevenir el establecimiento de infecciones asociadas a la atención en salud por este tipo de microorganismos.

Contribuciones de autoría: KYC y EGE concibieron el artículo, recolectaron los datos y el material de estudio, y redactaron. MZA, CRSA y JPS participaron en la idea de la investigación, la redacción y la asesoría técnica y administrativa. CBE y WVT participaron en la recolección de datos y material de estudio y redacción del artículo. Todos los autores realizaron la revisión crítica del artículo, aprobaron la versión final y asumen responsabilidad de los contenidos del manuscrito.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Falagas ME, Kasiakou SK. Colistin: the revival of polymyxins for the management of multidrug-resistant gram-negative bacterial infections. *Clin Infect Dis*. 2005;40(9):1333-41. doi: 10.1086/429323.
- Gao R, Hu Y, Li Z, Sun J, Wang Q, Lin J, et al. Dissemination and Mechanism for the MCR-1 Colistin Resistance. *PLoS Pathog*. 2016;12(11):e1005957. doi: 10.1371/journal.ppat.1005957.
- Blair JM, Webber MA, Baylay AJ, Aqbolu DO, Piddock LJ. Molecular mechanisms of antibiotic resistance. *Nat Rev Microbiol*. 2015;13(1):42-51. doi: 10.1038/nrmicro3380.
- Liu YY, Wang Y, Walsh TR, Yi LX, Zhang R, Spencer J, et al. Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. *Lancet Infect Dis*. 2016;16(2):161-168. doi: 10.1016/S1473-3099(15)00424-7.
- Poirel L, Jayol A, Nordmann P. Polymyxins: antibacterial activity, susceptibility testing, and resistance mechanisms encoded by plasmids or chromosomes. *Clin Microbiol Rev*. 2017;30(2):557-96. doi: 10.1128/CMR.00064-16.
- Giamarellou H. Epidemiology of infections caused by polymyxin-resistant pathogens. *Int J Antimicrob Agents*. 2016;48(6):614-21. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2016.09.025.
- Quiroga C, Nastro M, Di Conza J. Current scenario of plasmid-mediated colistin resistance in Latin America. *Rev Argent Microbiol*. 2018;51(1):93-100. doi: 10.1016/j.ram.2018.05.001.
- Fernandes MR, Moura Q, Sartori L, Silva KC, Cunha MP, Esposito F, et al. Silent dissemination of colistin-resistant *Escherichia coli* in South America could contribute to the global spread of the mcr-1 gene. *Euro Surveill*. 2016;21(17):30214. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2016.21.17.30214.
- Monte DF, Mem A, Fernandes MR, Cerdeira L, Esposito F, Galvao JA, et al. Chicken meat as a reservoir of colistin resistant *Escherichia coli* strains carrying mcr-1 genes in South America. *Antimicrob Agents Chemother*. 2017;61(5):e02718-16. doi: 10.1128/AAC.02718-16.
- Organización Panamericana de la Salud/Organización Mundial de La Salud [internet]. Alerta Epidemiológica: Enterobacterias con resistencia transferible a colistina, implicaciones para la salud pública en las Américas [Internet]. Washington D.C.: OPS/OMS; 2016. [citado el 25 de abril de 2020]. Disponible en: <https://www.paho.org/hq/dmdocuments/2016/2016-jun-10-alerta-epi-enterob-resist.pdf>.
- Deshpande LM, Hubler C, Davis AP, Castanheira M. Updated prevalence of mcr-like genes among *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in the SENTRY program and characterization of mcr-1.11 variant. *Antimicrob Agents Chemother*. 2019;63:e02450-18. doi: 10.1128/AAC.02450-18.
- Ugarte R, Olivo J, Corso A, Pasteran F, Albornoz E, Sahuanay ZP. Resistencia a colistina mediado por el gen mcr-1 identificado en cepas de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*. Primeros reportes en el Perú. *An Fac med*. 2018;79(3):213-7. doi: 10.15381/anales.v79i3.15313.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). 2020. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: 30th informational supplement M100-S30 [Internet]. CLSI, Wayne, PA [citado el 25 de abril de 2020]. Disponible en: <https://clsi.org/standards/products/microbiology/documents/m100/>.
- Servicio Antimicrobianos, Laboratorio Nacional de Referencia en Antimicrobianos, INEI-ANLIS "Dr Carlos G. Malbrán" [Internet]. Métodos de Screening "colistina Agar-Spot". [citado el 25 de abril de 2020]. Disponible en: <http://antimicrobianos.com.ar/ATB/wp-content/uploads/2017/09/Protocolo-Agar-spot-COL-2017-version2-Agosto2017.pdf>.
- Yauri K, Gonzales E, Di Conza J, Gutkind G. Detection of plasmid-mediated colistin resistance by colistin pre-diffusion and inhibition with EDTA test (CPD-E) in Enterobacteriaceae. *J Microbiol Methods*. 2019;167:105759. doi: 10.1016/j.mimet.2019.105759.
- Servicio Antimicrobianos, Laboratorio Nacional de Referencia en Antimicrobianos, INEI-ANLIS "Dr Carlos G. Malbrán" [Internet]. Protocolo de PCR-Multiplex para la detección de carbapenemasas. [citado el 25 de abril de 2020]. Disponible en: <http://antimicrobianos.com.ar/2019/10/protocolo-de-pcr-multiplex-para-la-deteccion-de-carbapenemasas/>.
- Ghasemi Y, Archin T, Kargar M, Mohkam M. A simple multiplex PCR for assessing prevalence of extended-spectrum β -lactamases producing *Klebsiella pneumoniae* in Intensive Care Units of a referral hospital in Shiraz, Iran. *Asian Pac J Trop Med*. 2013;6(9):703-708. doi: 10.1016/S1995-7645(13)60122-4.
- Sellera FP, Fernandes MR, Sartori L, Carvalho MPN, Esposito F, Nascimento CL, et al. *Escherichia coli* carrying IncX4 plasmid mediated mcr-1 and blaCTX-M genes in infected migratory Magellanic penguins (*Spheniscus magellanicus*). *J Antimicrob Chemother*. 2017;72(4):1255-6. doi: 10.1093/jac/dkw543.
- Delgado-Blas JF, Ovejero CM, Abadia-Patino L, Gonzalez-Zorn B. Coexistence of mcr-1 and blaNDM-1 in *Escherichia coli* from Venezuela. *Antimicrob Agents Chemother*. 2016;60(10):6356-8. doi: 10.1128/AAC.01319-16.
- Dalmolin TV, Martins AF, Zavascki AP, de Lima-Morales D, Barth AL. Acquisition of the mcr-1 gene by a high-risk clone of KPC-2-producing *Klebsiella pneumoniae* ST437/CC258, Brazil. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2018;90(2):132-3. doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2017.09.016.