



Resistencia a los antimicrobianos en Chile y el paradigma de *Una Salud*: manejando los riesgos para la salud pública humana y animal resultante del uso de antimicrobianos en la acuicultura del salmón y en medicina

Ana R. Millanao, Carolina Barrientos-Schaffeld, Claudio D. Siegel-Tike, Alexandra Tomova, Larisa Ivanova, Henry P. Godfrey, Humberto J. Dölz, Alejandro H. Buschmann y Felipe C. Cabello

Antimicrobial resistance in Chile and The One Health paradigm: Dealing with threats to human and veterinary health resulting from antimicrobial use in salmon aquaculture and the clinic

The emergence and dissemination of antimicrobial-resistant bacteria (ARB) is currently seen as one of the major threats to human and animal public health. Veterinary use of antimicrobials in both developing and developed countries is many-fold greater than their use in human medicine and is an important determinant in selection of ARB. In light of the recently outlined National Plan Against Antimicrobial Resistance in Chile, our findings on antimicrobial use in salmon aquaculture and their impact on the environment and human health are highly relevant. Ninety-five percent of tetracyclines, phenicols and quinolones imported into Chile between 1998 and 2015 were for veterinary use, mostly in salmon aquaculture. Excessive use of antimicrobials at aquaculture sites was associated with antimicrobial residues in marine sediments 8 km distant and the presence of resistant marine bacteria harboring easily transmissible resistance genes, in mobile genetic elements, to these same antimicrobials. Moreover, quinolone and integron resistance genes in human pathogens isolated from patients in coastal regions adjacent to aquaculture sites were identical to genes isolated from regional marine bacteria, consistent with genetic communication between bacteria in these different environments. Passage of antimicrobials into the marine environment can potentially diminish environmental diversity, contaminate wild fish for human consumption, and facilitate the appearance of harmful algal blooms and resistant zoonotic and human pathogens. Our findings suggest that changes in aquaculture in Chile that prevent fish infections and decrease antimicrobial usage will prove a determining factor in preventing human and animal infections with multiply-resistant ARB in accord with the modern paradigm of One Health.

Key words: Resistance, antimicrobials, antibiotics, aquaculture, salmon, One Health.

Palabras clave: Resistencia, antimicrobianos, acuicultura, salmón, Una Salud.

Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile.

Instituto de Farmacia, Facultad de Ciencias (ARM, CBS, CDST, HJD).

New York Medical College, Valhalla, New York, USA.

Department of Microbiology and Immunology (AT, LI, FCC).

Department of Pathology (HPG).

Universidad de Los Lagos, Puerto Montt, Chile.

Centro i-mar and CeBiB (AHB).

Los autores no tienen conflictos de interés que declarar.

Recibido: 6 de febrero de 2018

Aceptado: 27 de febrero de 2018

Correspondencia a:

Felipe C. Cabello

cabello@nymc.edu

El surgimiento de bacterias resistentes a los antimicrobianos (BRA) y su diseminación mundial ha sido reconocida como una de las principales amenazas a la salud pública humana y animal del siglo XXI¹⁻⁵. La relevancia crítica de este problema ha sido ampliamente debatida por organizaciones internacionales y nacionales de salud, gobiernos, fundaciones privadas, sociedades profesionales y, cada vez más, por los consumidores¹⁻⁶. Este último grupo incluye clientes de organizaciones de atención médica y consumidores de alimentos de origen animal y sus derivados, quienes exigen cada vez más que los minoristas distribuyan alimentos certificados que hayan sido producidos de forma sustentable⁷⁻⁹.

No es sorprendente que las BRA surjan preferentemente en sitios donde existe un uso masivo y múltiple de antimicrobianos, como hospitales y en la crianza industrial

de animales, incluyendo la acuicultura^{1-3,6,9}. Durante mucho tiempo se ha reconocido que las infecciones producidas por BRA se asocian con una mayor mortalidad, morbilidad aumentada y un mayor número de complicaciones que conducen a hospitalizaciones prolongadas y a mayores costos de tratamiento^{1-3,6-12}. También se ha demostrado repetidamente, en casi todos los países, tanto desarrollados como en desarrollo, que se utilizan muchos más antimicrobianos en la producción de animales para alimento humano y para otros usos veterinarios que en medicina humana²⁻⁵, uso veterinario que está ampliamente aceptado, aunque juega un papel importante en la aparición de resistencia antimicrobiana en patógenos animales y humanos^{2,5}. El paso de antimicrobianos a los ambientes terrestres y acuáticos, como resultado de estas usanzas selecciona bacterias resistentes y aumenta la frecuencia



de variación genética en ellas fomentando la mutación, la recombinación de ADN y la transferencia horizontal de variantes y de nuevos genes de resistencia a antimicrobianos^{1,5,10-14}. Esta panoplia de variación molecular también facilita la captura de genes de resistencia antimicrobiana nuevos y no reconocidos del resistoma ambiental por patógenos animales y humanos, dificultando aún más la antibioterapia de infecciones^{1,2,6,12,14,15}.

Recientemente, el gobierno chileno propuso un esbozo de un plan nacional para prevenir y combatir la resistencia a los antimicrobianos siguiendo las recomendaciones de la Organización Mundial de la Salud (OMS), la Organización de Alimentación y Agricultura (FAO), la Oficina Internacional de Epizootias (OIE) y la Asamblea General de las Naciones Unidas¹⁶. Hemos participado activamente en el estudio de las cantidades de antimicrobianos utilizados en medicina veterinaria en Chile durante los últimos 15 años, especialmente en la acuicultura del salmón y su posible impacto^{1,12,17}. Anteriormente publicamos nuestros hallazgos en numerosos trabajos^{1,17,18}, y ahora nos gustaría volver a plantear estos datos, ampliar nuestros hallazgos hasta 2015 y discutir su relevancia para el surgimiento de la resistencia a los antimicrobianos en Chile a la luz del Plan Nacional propuesto^{1,17,19,20}.

La determinación de las cantidades de antimicrobianos utilizados en un área determinada, en un período de tiempo bien definido, es la piedra angular para prevenir y combatir la resistencia a antimicrobianos porque los niveles de esta resistencia están directamente relacionados con las cantidades de antimicrobianos utilizados^{1,10-13}. Como no se producen antimicrobianos en Chile, todos los antimicrobianos utilizados en este país deben importarse. Entre 1998 y 2015, nuestro análisis indicó que 95% (7.775 toneladas) de tetraciclinas, fenicoles y quinolonas importadas a Chile eran para uso veterinario (Figura 1)^{12,17,19,20}. De estos antimicrobianos importados, 19% (1.480 toneladas) fueron quinolonas, 35% (2.683 toneladas) fueron fenicoles y 46% (3.612 toneladas) fueron tetraciclinas. De las quinolonas importadas para uso veterinario, se utilizaron 1.132 toneladas (77%) en acuicultura. Interesantemente, los fenicoles importados para uso veterinario aumentaron de 3,2 toneladas entre los años 2000-2003 a 1.606 toneladas entre 2012 y 2015, lo que probablemente refleje un mayor uso en acuicultura y más específicamente acuicultura de salmón^{12,17,18,20}. Durante este mismo período, se importaron 381 toneladas de antimicrobianos (5% del total) para uso clínico humano: 312 toneladas (82%) de quinolonas, 28 toneladas (7%) de fenicoles y 41 toneladas (11%) de tetraciclinas. Otra ilustración de la diferencia entre el uso clínico veterinario y humano es que, si bien se importó un promedio de 226 toneladas de tetraciclinas por año para uso veterinario entre 2000 y 2015, sólo se importaron 2,5 toneladas por año, cien veces menos, que para uso humano, en el mismo período^{12,17,18,20}. También hemos demostrado

que la importación de estos antimicrobianos al país ha sido directamente proporcional a la expansión de la producción de la acuicultura del salmón^{12,17}.

Estos hallazgos indican que, como en otros países, el uso de antimicrobianos en animales, específicamente en la acuicultura del salmón en este caso, probablemente impulse la selección de BRA para estos tres grupos altamente importantes de antimicrobianos y también para otros, dado que se usan 20 veces más antimicrobianos en la salmonicultura que en medicina humana^{12,17,18,20}. Estos hallazgos también indican que antimicrobianos relevantes para medicina humana como son las quinolonas, se han utilizado indiscriminadamente en la medicina veterinaria en Chile, en marcado contraste con las recomendaciones internacionales que indican que el uso veterinario de antimicrobianos útiles en la medicina humana debería restringirse en veterinaria^{12,17,18,20}. Un hecho positivo ha sido la reciente disminución del uso de quinolonas altamente efectivas en medicina humana en la acuicultura a raíz de las demandas efectuadas por los reguladores gubernamentales y distribuidores, sugiriendo que el uso de antimicrobianos se puede modificar con relativa rapidez en respuesta a los requerimientos del mercado²⁰.

Desafortunadamente, nuestros estudios sugirieron que las cantidades de antimicrobianos que se usarían en medicina veterinaria podrían subestimarse ya que descubrimos que los servicios reguladores gubernamentales responsables de evaluar este uso autorizaron cantidades menores en algunos años que las cantidades realmente importadas para ese uso^{12,17}.

Nuestra demostración de la presencia de antimicrobianos residuales en sedimentos marinos, así como de bacterias resistentes a antimicrobianos (BRA) en agua y sedimentos, en áreas a ocho kms de distancia de las áreas de aplicación, y la presencia de genes de resistencia en estas BRA a los fármacos más utilizados en esta actividad, vale decir: tetraciclinas, fenicoles y quinolonas¹⁸, es consistente con nuestras conclusiones y las de otros investigadores, que el paso de los antimicrobianos utilizados en la acuicultura chilena al agua dulce y ambientes marinos subyacen a estas observaciones ya que las bacterias en estos ambientes contienen múltiples genes de resistencia a los antimicrobianos^{18,21}. Hemos demostrado que las BRA del ambiente marino contienen genes de resistencia a antimicrobianos en elementos móviles como plásmidos e integrones, y que pueden transferir estas estructuras genéticas y sus genes de resistencia a otras bacterias^{18,22-25}. Las bacterias marinas y las bacterias patógenas humanas de las regiones acuícolas comparten genes de resistencia a los antimicrobianos y elementos genéticos móviles, sugiriendo que pueden intercambiar estos elementos genéticos mediante la transmisión horizontal de genes, probablemente en el medio acuático^{18,22-25}.

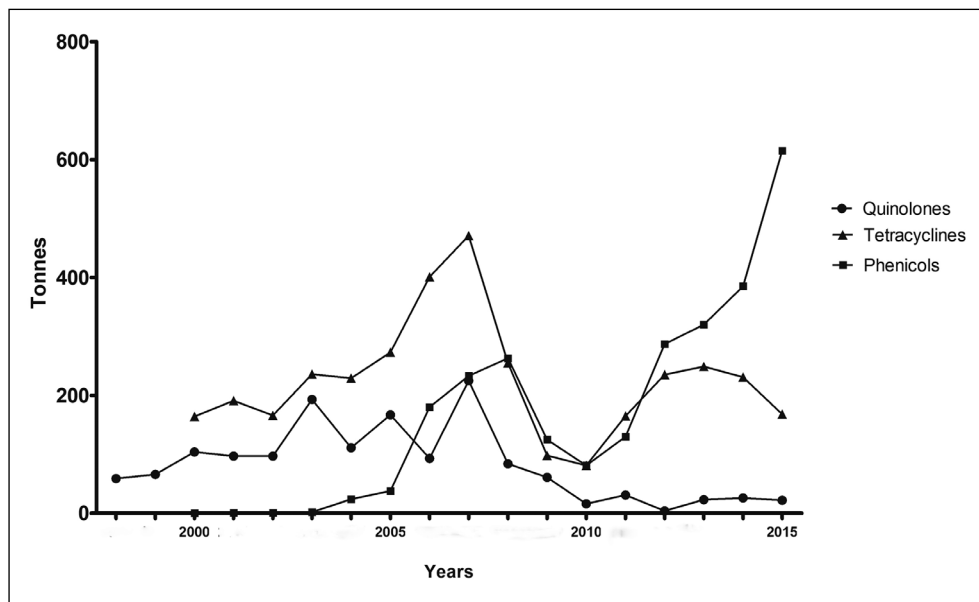


Figura 1. Toneladas métricas de fenicoles, tetraciclinas y quinolonas importadas a Chile para uso en medicina veterinaria, principalmente en acuicultura, 1998-2015. Información obtenida de las referencias 12, 17, 19 y 20.

Esta línea de investigación ha indicado también que el ambiente marino contiene bacterias que albergan nuevos genes, de resistencia a antimicrobianos que potencialmente pueden pasar a los patógenos de peces y humanos^{18,23-25}.

El uso de antimicrobianos en medicina veterinaria, y específicamente en acuicultura, puede tener un impacto negativo en la salud humana al seleccionar BRA en el ambiente acuático y facilitar la transferencia de genes de resistencia a antimicrobianos entre las bacterias marinas y las especies patógenas para los humanos^{1,12,17,23-25}. La salud humana también se puede ver afectada por la contaminación de peces silvestres para consumo humano con residuos de antimicrobianos. Estos residuos pueden alterar el microbioma humano^{26,27} y seleccionar BRA en la carne de pescado silvestre y productos acuícolas, factores todos ellos capaces de estimular la transmisión horizontal de genes de resistencia a antimicrobianos^{1,26,27}.

Nuestros estudios sugieren de manera importante que las extendidas áreas geográficas utilizadas por la actividad acuícola en Chile son relevantes para la generación de BRA, la diseminación de estas bacterias y de sus genes de resistencia a antimicrobianos a todo el mundo^{1,11,12,17,18,22-24}.

El empleo de antimicrobianos en la acuicultura tiene otros impactos en el medio ambiente además de su impacto en la salud humana producido por la selección de BRA y genes de resistencia a los antimicrobianos. Su uso puede disminuir la diversidad biológica en el ambiente con el potencial teórico de facilitar la floración de algas tóxicas y la selección de microorganismos patógenos para el hombre de origen marino resistentes; es el caso de *Vibrio parahaemolyticus* y patógenos zoonóticos de origen acuático^{12,28,29}.

Recientemente se ha descubierto que la diversidad bacteriana en un área de cultivo de salmón es reducida en comparación con la de un sitio de control que carece de actividades de acuicultura de salmón, y pareciera que la función de estas bacterias en el ecosistema también es diferente³⁰. La disminución de la diversidad biológica producida por este uso excesivo de antimicrobianos también facilita las infecciones bacterianas de los peces cultivados con nuevos y emergentes patógenos resistentes a antimicrobianos, como *Piscirickettsia salmonis*, que junto con las floraciones de algas nocivas constituyen una gran amenaza para la industria de la acuicultura^{1,31,32}. Por ejemplo, aproximadamente, la mitad de los aislados de *P. salmonis* en Chile son resistentes a quinolonas, lo que refleja el extenso uso previo de estos terapéuticos en la industria³².

Nuestras investigaciones han indicado que el uso indiscriminado de antimicrobianos constituye un riesgo para la salud humana, animal y ambiental, así como para la propia industria de la acuicultura. Por esta razón, propusimos un conjunto de medidas en el año 2011 que podrían implementarse en la industria acuícola chilena por las entidades reguladoras chilenas de sanidad animal y humana para mejorar estos impactos^{12,17}. Muchas de nuestras recomendaciones coinciden con las del plan nacional propuesto para prevenir y combatir la resistencia a los antimicrobianos. Sin embargo, nos gustaría sugerir que el plan también debería incorporar medidas basadas en el paradigma de *Una Salud* para registrar y controlar el uso de antimicrobianos en animales y humanos^{1,3,33}. El paradigma *Una Salud* específica que la protección de la salud humana se logra mediante la implementación de



medidas higiénicas en la cría industrial de animales y peces para disminuir el uso de antimicrobianos, porque como nosotros y otros han demostrado, la salud animal y humana están interconectadas y tienen interacciones recíprocas^{1,3,12,33,34,35}. Los factores más importantes que facilitan la aparición de BRA y la diseminación de genes de resistencia a antimicrobianos que afectan la salud humana en Chile podrían evitarse mediante una atención veterinaria adecuada a la higiene y el bienestar de los animales, especialmente la de los peces en acuicultura.

Agradecimientos. Este trabajo ha sido apoyado por subvenciones del Lenfest Ocean Program/Pew Charitable Trusts (FCC y AHB), FONDECYT, Núcleo de Investigación (NU02/2016, Universidad de Los Lagos y Programa Basal-CONICYT FB001) (AHB), y por una beca de la Fundación John Simon Guggenheim (FCC).

Resumen

El aumento de la resistencia bacteriana múltiple a antimicrobianos es considerado una gran amenaza para la salud pública mundial y como generador de una importante crisis en el funcionamiento de los sistemas de salud. Esta crisis es discutida diariamente por los gobiernos y los parlamentos, las instituciones globales de salud, fundaciones benéficas y de científicos y de profesionales de la salud y también de consumidores de productos animales. En todos los países del orbe se ha identificado al uso de antimicrobianos en la crianza industrial de animales como un importante determinante en la selección de esta resistencia. Aprovechando la oportunidad que se ha planteado en Chile con el diseño del Plan Nacional Contra la Resistencia a los Antimicrobianos, hemos creído importante visitar y actualizar sumariamente nuestros estudios sobre el uso de antimicrobianos en la acuicultura del salmón y de su potencial impacto en el ambiente y la salud humana y animal. Estos estudios indican que 95%

de tres grupos de antimicrobianos importados al país, que incluyen tetraciclinas, fenicoles y quinolonas, son usados en medicina veterinaria y mayormente en la acuicultura del salmón. Nuestros estudios indican que el excesivo uso de estos antimicrobianos genera la presencia de residuos de antimicrobianos en el ambiente marino hasta 8 km de los sitios de acuicultura, los que seleccionan a bacterias con resistencia múltiple en dicho ambiente, ya que ellas contienen variados genes de resistencia a estos antimicrobianos. Estos genes de resistencia están contenidos en elementos genéticos móviles incluyendo plásmidos e integrones, los que son transmitidos a otras bacterias permitiendo su potencial diseminación epidémica entre poblaciones bacterianas. Bacterias del ambiente marino contienen genes idénticos a los genes de resistencia a quinolonas e integrones similares a los de patógenos humanos, sugiriendo comunicación genética entre estas bacterias de diversos ambientes. Alrededor de los recintos de acuicultura, este uso exagerado de antimicrobianos contamina con ellos también a peces silvestres para consumo humano y potencialmente selecciona BRA en su carne y en los productos de acuicultura. El consumo de estos productos selecciona bacterias resistentes en el microbioma humano y facilita también el intercambio genético entre bacterias del ambiente acuático y la microbiota comensal y patógena humana. El pasaje de antimicrobianos al ambiente marino disminuye la diversidad en él, y potencialmente podría facilitar la aparición de florecimientos de algas nocivas, la infección de peces por patógenos piscícolas resistentes los antimicrobianos y la aparición de patógenos zoonóticos resistentes, incluyendo a *Vibrio parahaemolyticus*. Estos hallazgos sugieren que la prevención de infecciones en peces y la disminución del uso de antimicrobianos en su crianza, será en Chile un factor determinante en la prevención de infecciones humanas y animales con resistencia múltiple a los antimicrobianos, de acuerdo con el paradigma moderno e integral de *Una Salud*.

Referencias bibliográficas

- 1.- Cabello F C, Godfrey H P, Buschmann A H, Döhl H J. Aquaculture as yet another environmental gateway to the development and globalization of antimicrobial resistance. *Lancet Infect Dis* 2016; 16 (7): e127-e133. Review. PubMed PMID: 27083976.
- 2.- Allcock S, Young E H, Holmes M, Gurdasani D, Dougan G, Sandhu M S, et al. Antimicrobial resistance in human populations: challenges and opportunities. *Glob Health Epidemiol Genom* 2017; 2: e4. Review. PubMed PMID: 29276617.
- 3.- National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine, Health and Medicine Division, Board on Global Health, Forum on Microbial Threats. Combating Antimicrobial Resistance: A One Health Approach to a Global Threat: Proceedings of a Workshop. Washington, DC: National Academies Press (USA); 2017. PubMed PMID: 29227604.
- 4.- Lekshmi M, Ammini P, Kumar S, Varela M F. The food production environment and the development of antimicrobial resistance in human pathogens of animal origin. *Microorganisms* 2017; 5(1). pii: E11. PubMed PMID: 28335438.
- 5.- Venter H, Henningsen M L, Begg S L. Antimicrobial resistance in healthcare, agriculture and the environment: the biochemistry behind the headlines. *Essays Biochem* 2017; 61: 1-10. Review. PubMed PMID: 28258225.
- 6.- Cabello F C, Godfrey H P. Even therapeutic antimicrobial use in animal husbandry may generate environmental hazards to human health. *Environ Microbiol* 2016; 18: 311-3. PubMed PMID: 26913818.
- 7.- WHO: Health indicators of sustainable agriculture, food and nutrition security in the context of the Rio+20 UN Conference on Sustainable Development. www.who.int/hia/green_economy/indicators_food.pdf. 2012 (accedido 30 de enero de 2018).
- 8.- Mie A, Andersen H R, Gunnarsson S, Kahl J, Kesse-Guyot E, Rembialkowska E, et al. Human health implications of organic food and



- organic agriculture: a comprehensive review. *Environ Health*. 201; 16 (1): 111. Review. PubMed PMID: 29073935.
- 9.- Henriksson P J G, Rico A, Troell M, Klingner D H, Buschmann A H, Saksida S, et al. Unpacking factors influencing antimicrobial use in global aquaculture and their implication for management: a review from a systems perspective. *Sustain Sci* 2017. <https://doi.org/10.1007/s11625-017-0511-8> (accessed 2018-01-31).
 - 10.- Cabello F C. Antibióticos y acuicultura. Un análisis de sus potenciales impactos para el medio ambiente y la salud humana y animal en Chile. Análisis de Políticas Públicas. Organización Terram, Publicación N° 17, 2003. Santiago, Chile http://www.terram.cl/docs/App17_Antibioticos_y_Acuicultura.pdf
 - 11.- Cabello F C. Heavy use of prophylactic antibiotics in aquaculture: a growing problem for human and animal health and for the environment. *Environ Microbiol* 2006; 8: 1137-44. Review. PubMed PMID: 16817922.
 - 12.- Cabello F C, Godfrey H P, Tomova A, Ivanova L, Dölz HJ, Millanao A, et al. Antimicrobial use in aquaculture re-examined: its relevance to antimicrobial resistance and to animal and human health. *Environ Microbiol*. 2013; 15: 1917-42. Review. PubMed PMID: 23711078.
 - 13.- Watts J E M, Schreier H J, Lanska L, Hale M S. The rising tide of antimicrobial resistance in aquaculture: sources, sinks and solutions. *Mar Drugs* 2017;15(6). pii: E158. Review. PubMed PMID: 28587172.
 - 14.- Cabello F C, Godfrey H P. Comment on: Transferable resistance to colistin: a new but old threat. *J Antimicrob Chemother* 2017; 72: 636-637. PubMed PMID: 27733518.
 - 15.- Cabello F C, Tomova A, Ivanova L, Godfrey H P. Aquaculture and *mcr* colistin resistance determinants. *MBio* 2017; 8 (5). pii: e01229-17. PubMed PMID: 28974615.
 - 16.- Plan Nacional Contra la Resistencia a los Antimicrobianos. Ministerio de Salud, Chile. 2017. https://urldefense.proofpoint.com/v2/url?u=http-3A__diprece.minsal.cl_programas-2Dde-2Dsalud_programas-2Ddenfermedades-2Dtransmisibles_resistencia-2Dantimicrobiana_&d=DwIFAg&c=A51OX6aSaU1ywwq_3bUC2Q&r=4DNr_1PeSVT7RodmQ9igLgkBPpXPyAqxHVAHAbkq_asQ&m=sB3LTVdFp6TIU_hMspHRdJnGl4Uxtt2SwTUKFY2DwTA&s=5BPmpkphcQEfEWYjlpuKCE9JBvOdeFIyOJRP-fuGIpg&e= (accessed, 01-30-2018).
 - 17.- Millanao A B, Barrientos H M, Gómez C C, Tomova A, Buschmann A, Dölz H J, et al. Uso inadecuado y excesivo de antibióticos: Salud pública y salmonicultura en Chile. *Rev Med Chile* 2011; 139: 107-18. Review. PubMed PMID: 21526325.
 - 18.- Buschmann A H, Tomova A, López A, Maldonado M A, Henríquez L A, Ivanova L, et al. Salmon aquaculture and antimicrobial resistance in the marine environment. *PLoS One*. 2012;7(8): e42724. PubMed PMID: 22905164.
 - 19.- Siegel-Tike C S. Estudio cualitativo y cuantitativo de los fenicoles y tetraciclinas importadas y autorizadas para uso y disposición en medicina y en veterinaria en Chile, en el período 2013-2015. Consideraciones sobre su impacto para la salud pública y el medio ambiente. 2016. Tesis. Escuela de Química y Farmacia. Universidad Austral, Valdivia. Chile.
 - 20.- Barrientos-Schaffeld C S. Estudio cualitativo y cuantitativo de las quinolonas y las fluorquinolonas importada y autorizadas para uso y disposición en medicina y en veterinaria en Chile, en el período 2013-2015. Consideraciones sobre su impacto para la salud pública y el medio ambiente. 2016. Tesis. Escuela de Química y Farmacia. Universidad Austral, Valdivia. Chile.
 - 21.- Miranda C D, Kehrenberg C, Ulep C, Schwarz S, Roberts M C. Diversity of tetracycline resistance genes in bacteria from Chilean salmon farms. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47: 883-8. PubMed PMID: 12604516.
 - 22.- Aedo S, Ivanova L, Tomova A, Cabello F C. Plasmid-related quinolone resistance determinants in epidemic *Vibrio parahaemolyticus*, uropathogenic *Escherichia coli*, and marine bacteria from an aquaculture area in Chile. *Microb Ecol* 2014; 68: 324-8. PubMed PMID: 24760167.
 - 23.- Shah S Q, Cabello F C, L'abée-Lund T M, Tomova A, Godfrey H P, Buschmann A H, et al. Antimicrobial resistance and antimicrobial resistance genes in marine bacteria from salmon aquaculture and non-aquaculture sites. *Environ Microbiol* 2014; 16: 1310-20. PubMed PMID: 24612265.
 - 24.- Tomova A, Ivanova L, Buschmann AH, Rioseco M L, Kalsi R K, Godfrey H P, et al. Antimicrobial resistance genes in marine bacteria and human uropathogenic *Escherichia coli* from a region of intensive aquaculture. *Environ Microbiol Rep* 2015; 7: 803-9. PubMed PMID: 26259681.
 - 25.- Tomova A, Ivanova L, Buschmann A H, Godfrey H P, Cabello F C. Plasmid-mediated quinolone resistance (PMQR) genes and class I integrons in quinolone-resistant marine bacteria and clinical isolates of *Escherichia coli* from an aquacultural area. *Microb Ecol* 2018; 75: 104-112. PubMed PMID: 28642992.
 - 26.- Fortt A Z, Cabello F C, Buschmann A H. Residuos de tetraciclina y quinolonas en peces silvestres en una zona costera donde se desarrolla la acuicultura del salmón en Chile. *Rev Chilena Infectol* 2007; 24: 14-8.
 - 27.- Brinkac L, Voorhies A, Gómez A, Nelson K E. The threat of antimicrobial resistance on the human microbiome. *Microb Ecol* 2017; 74: 1001-8. Review. PubMed PMID: 28492988.
 - 28.- Hernández C G, Ulloa J, Vergara J A O, Espejo R T, Cabello F C. Infecciones por *Vibrio parahaemolyticus* e intoxicaciones por algas: problemas emergentes de salud pública en Chile. *Rev Med Chile* 2005; 133: 1081-8. Review. PubMed PMID: 16311702.
 - 29.- Cabello F C, Espejo R T, Hernández M C, Rioseco M L, Ulloa J, Vergara J A. *Vibrio parahaemolyticus* O3:K6 epidemic diarrhea, Chile, 2005. *Emerg Infect Dis* 2007; 13: 655-6. PubMed PMID: 17561569.
 - 30.- Hornick K M, Buschmann A H. Insights into the diversity and metabolic function of bacterial communities in sediments from Chilean salmon aquaculture. 2018. *Ann Microbiol* 2018; 68: 63-77.
 - 31.- Cabello F C, Godfrey H P. Florecimiento de algas nocivas (FANs), ecosistemas marinos y la salud humana en la Patagonia chilena. *Rev Chilena Infectol* 2016; 33: 559-560. PubMed PMID: 28112340.
 - 32.- Henríquez P, Kaiser M, Bohle H, Bustos P, Mancilla M. Comprehensive antibiotic susceptibility profiling of Chilean *Piscirickettsia salmonis* field isolates. *J Fish Dis* 2016; 39: 441-8. PubMed PMID: 26660665.
 - 33.- Boqvist S, Söderqvist K, Vågsholm I. Food safety challenges and One Health within Europe. *Acta Vet Scand* 2018; 60: 1. PubMed PMID: 29298694.
 - 34.- Argudín M A, Deplano A, Meghraoui A, Dodémont M, Heinrichs A, Denis O, et al. Bacteria from animals as a pool of antimicrobial resistance genes. *Antibiotics (Basel)* 2017; 6 (2). pii: E12. doi: 10.3390/antibiotics6020012. Review. PubMed PMID: 28587316; PubMed Central PMCID: PMC5485445.
 - 35.- Webb H E, Angulo F J, Granier S A, Scott H M, Loneragan G H. Illustrative examples of probable transfer of resistance determinants from food animals to humans: Streptothricins, glycopeptides, and colistin. *F1000Res*. 2017 Oct 5;6:1805. doi: 10.12688/f1000research.12777.1. eCollection 2017. Review. PubMed PMID:29188021; PubMed Central PMCID: PMC5686510.



Antimicrobial resistance in Chile and The One Health paradigm: Dealing with threats to human and veterinary health resulting from antimicrobial use in salmon aquaculture and the clinic

Ana R. Millanao, Carolina Barrientos-Schaffeld, Claudio D. Siegel-Tike, Alexandra Tomova, Larisa Ivanova, Henry P. Godfrey, Humberto J. Dölz, Alejandro H. Buschmann and Felipe C. Cabello

Universidad Austral de Chile,
Valdivia, Chile.

Instituto de Farmacia, Facultad de Ciencias (ARM, CBS, CDST, HJD).

New York Medical College,
Valhalla, New York, USA.

Department of Microbiology and Immunology (AT, LI, FCC).

Department of Pathology (HPG).

Universidad de Los Lagos,
Puerto Montt, Chile.

Centro i-mar and CeBiB (AHB).

Conflict of interest: The authors do not have any conflicts of interest to declare.

Received: February 6, 2018

Accepted: February 27, 2018

Corresponding Author:

Felipe C. Cabello, Department of Microbiology and Immunology, New York Medical College, Valhalla, NY 10595, U.S.A. cabello@nymc.edu

Resistencia a los antimicrobianos en Chile y el paradigma de Una Salud: manejando los riesgos para la salud pública humana y animal resultante del uso de antimicrobianos en la acuicultura del salmón y en medicina

El aumento de la resistencia bacteriana múltiple a antimicrobianos es considerado una gran amenaza para la salud pública mundial y como generador de una importante crisis en el funcionamiento de los sistemas de salud. Esta crisis es discutida diariamente por los gobiernos y los parlamentos, las instituciones globales de salud, fundaciones benéficas y de científicos y de profesionales de la salud y también de consumidores de productos animales. En todos los países del orbe se ha identificado al uso de antimicrobianos en la crianza industrial de animales como un importante determinante en la selección de esta resistencia. Aprovechando la oportunidad que se ha planteado en Chile con el diseño del Plan Nacional Contra la Resistencia a los Antimicrobianos, hemos creído importante visitar y actualizar sumariamente nuestros estudios sobre el uso de antimicrobianos en la acuicultura del salmón y de su potencial impacto en el ambiente y la salud humana y animal. Estos estudios indican que 95% de tres grupos de antimicrobianos importados al país, que incluyen tetraciclinas, fenicoles y quinolonas, son usados en medicina veterinaria y mayormente en la acuicultura del salmón. Nuestros estudios indican que el excesivo uso de estos antimicrobianos genera la presencia de residuos de antimicrobianos en el ambiente marino hasta 8 km de los sitios de acuicultura, los que seleccionan a bacterias con resistencia múltiple en dicho ambiente, ya que ellas contienen variados genes de resistencia a estos antimicrobianos. Estos genes de resistencia están contenidos en elementos genéticos móviles incluyendo plásmidos e integrones, los que son transmitidos a otras bacterias permitiendo su potencial diseminación epidémica entre poblaciones bacterianas. Bacterias del ambiente marino contienen genes idénticos a los genes de resistencia a quinolonas e integrones similares a los de patógenos humanos, sugiriendo comunicación genética entre estas bacterias de diversos ambientes. Alrededor de los recintos de acuicultura este uso exagerado de antimicrobianos contamina con ellos también a peces silvestres para consumo humano y potencialmente selecciona a bacterias resistentes a los antimicrobianos en su carne y en los productos de acuicultura. El consumo de estos productos selecciona bacterias resistentes en el microbioma humano y facilita también el intercambio genético entre bacterias del ambiente acuático y la flora comensal y patógena humana. El pasaje de antimicrobianos al ambiente marino disminuye la diversidad en él, y potencialmente podría facilitar la aparición de florecimientos de algas nocivas, la infección de peces por patógenos piscícolas resistentes los antimicrobianos y la aparición de patógenos zoonóticos resistentes, incluyendo a *Vibrio parahaemolyticus*. Estos hallazgos sugieren que la prevención de infecciones en peces y la disminución del uso de antimicrobianos en su crianza, será en Chile un factor determinante en la prevención de infecciones humanas y animales con resistencia múltiple a los antimicrobianos, de acuerdo con el paradigma moderno e integral de Una Salud.

Palabras clave: Resistencia, antimicrobianos, acuicultura, salmón, Una Salud.

Key words: Resistance, antimicrobials, antibiotics, aquaculture, salmon, One Health.

Emergence of antimicrobial-resistant bacteria (ARB) and their worldwide dissemination has been recognized as one of the major human and animal public health threats of the 21st century¹⁻⁵. The critical relevance of this problem has been widely discussed by

international and national health organizations, governments, private foundations, professional societies, and increasingly, by consumers¹⁻⁶. This latter group includes customers of health care organizations and consumers of animal food products and their derivatives who increa-



singly are demanding that retailers distribute foodstuffs certified to have been sustainably produced⁷⁻⁹.

Not surprisingly, ARB are most likely to emerge in hotspots with concentrated multiple antimicrobial usage such as hospitals and industrial animal husbandry, including aquaculture^{1,2,3,6,9}. It has long been recognized that infections produced by resistant bacteria are associated with increased mortality, augmented morbidity, and greater numbers of complications leading to prolonged hospitalizations and higher treatment costs^{1-3,6-12}. It has also been repeatedly demonstrated in almost every country, both developed and developing, that many-fold more antimicrobials are used in production of animals for food and for other veterinary uses than in human medicine²⁻⁵, and this veterinary use is widely agreed to play an important role in the emergence of antimicrobial resistance in animal and human pathogens^{2,5}. Passage of antimicrobials into the terrestrial and aquatic environments as a result of these activities select resistant bacteria and increase the frequency of genetic variation in them by fostering mutation, DNA recombination and horizontal gene transfer of variants and new antimicrobial resistance genes^{1,5,10-14}. This panoply of molecular variation also facilitates the capture of new and unrecognized antimicrobial resistance genes from the environmental resistome by animal and human pathogens, further undermining the therapy of infections^{1,2,6,12,14,15}.

The Chilean government has recently proposed an outline for a national plan to prevent and combat antimicrobial resistance following the recommendations of the World Health Organization (WHO), the Food and Agricultural Organization (FAO), the Office International des Epizooties (OIE), and the United Nations General Assembly¹⁶. We have been actively involved in studying the amounts of antimicrobials used in veterinary medicine in Chile for the past 15 years, especially in salmon aquaculture, and their potential impact^{1,12,17}. We have previously published our findings in numerous reports^{1,17,18}, and would now like to revisit this data, extend our findings to 2015, and discuss their relevance to the emergence of antimicrobial resistance in Chile in light of the proposed National Plan^{1,17,19,20}.

Determination of the amounts of antimicrobials used in a defined area in a well-defined period of time is the cornerstone for preventing and combatting antimicrobial resistance because levels of resistance are directly related to the amounts of antimicrobial used^{1,10-13}. Since no antimicrobials are produced in Chile, all antimicrobials used in this country must be imported. Between 1998 and 2015, our analysis indicated that 95% (7,775 tonnes) of tetracyclines, phenicols and quinolones imported into Chile were for veterinary use^{12,17,19,20}. Of these imported antimicrobials, 19% (1,480 tonnes) were quinolones, 35% (2,683 tonnes) were phenicols and 46% (3,612

tonnes) were tetracyclines. Of the quinolones imported for veterinary use, 1,132 tonnes (77%) were used in aquaculture. Interestingly, phenicols for veterinary use increased from 3.2 tonnes between 2000-2003 to 1,606 tonnes between 2012-2015, probably reflecting increased use in aquaculture and more specifically mainly in salmon farming^{12,17,18,20}. During this same period, 381 tonnes of antimicrobials (5% of the total) were imported for human clinical use: 312 tons (82%) quinolones, 28 tonnes (7%) phenicols, and 41 tons (11%) tetracyclines. A further illustration of the difference between veterinary and human clinical use is that while an average of 226 tons of tetracyclines per year were imported for veterinary use between 2000-2015, only 2.5 tons, a hundred times less, were imported each year for human clinical use in the same time period^{12,17,18,20}. We have also shown that the importation of these antimicrobials to the country has been directly proportional to the expansion of salmon aquaculture production^{12,17}.

These findings indicate that, as in other nations, antimicrobial use in animals, specifically salmon aquaculture in this case, likely drives selection for ARB for these three groups of antimicrobials as well as for others others given that the total of this antimicrobial use in Chile is almost 20 times higher than its use in human medicine^{12,17,18,20}. Moreover, these results indicate that highly relevant antimicrobials such as quinolones have been used indiscriminately in veterinary medicine in Chile, in stark contrast with international recommendations that veterinary use of antimicrobials useful in human medicine should be restricted^{12,17,18,20}. A positive development has been the recent decrease of the use of highly effective quinolones in aquaculture after demands from government regulators and retailers, suggesting that antimicrobial use can be modified relatively quickly in response to market requirements²⁰.

Unfortunately, our studies suggested that the amounts of antimicrobials determined to be used in veterinary medicine might be underestimations as we found that the governmental regulatory services responsible for assessing this use authorized lower amounts in some years than the amounts actually imported for that use^{12,17}.

Our documentation of the presence of residual antimicrobials in marine sediments as well as ARB in water and sediments in areas 8 km distant from the areas of application, and the presence of antimicrobial resistance genes in these ARB to the antimicrobials mostly used in this activity, i.e. tetracyclines, phenicols and quinolones¹⁸, is consistent with our and others' conclusions that passage of antimicrobials used in Chilean aquaculture into fresh water and marine environments underlie these observations since bacteria in these environments contain multiple antimicrobial resistance genes^{18,21}. We have shown that ARB from the marine environment contain

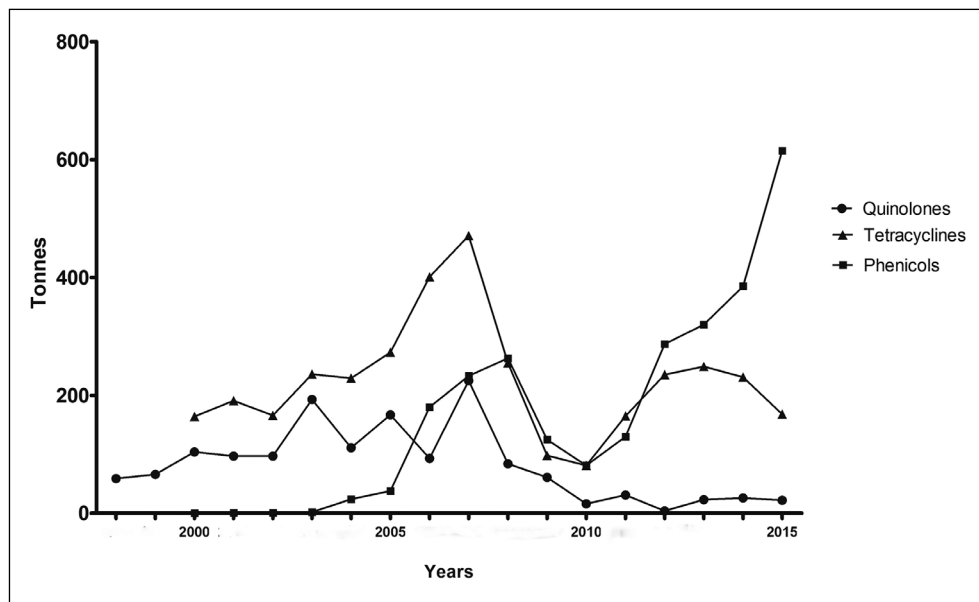


Figure 1. Metric tonnes of phenicols, tetracyclines and quinolones imported to Chile for use in veterinary medicine mainly in aquaculture, 1998-2015. The information has been obtained from references 12, 17, 19 and 20.

their antimicrobial resistance genes in mobile genetic elements such as plasmids and integrons, and that they can transfer these genetic structures and their resistance genes to other bacteria^{18,22-25}. Marine bacteria and human pathogenic bacteria from aquaculture regions share antimicrobial resistance genes and mobile genetic elements, suggesting that they can exchange these genetic elements by horizontal gene transmission, probably in the aquatic environment^{18,22-25}.

This work has also indicated that the marine environment contains bacteria harboring undescribed and new antimicrobial resistance genes that can potentially pass to the resistome of piscine and human pathogens^{18,23-25}.

Antimicrobial use in veterinary medicine and specifically in aquaculture can thus have negative impact on human health by selecting ARB in the aquatic environment and facilitating transfer of antimicrobial resistance genes between marine bacteria and human pathogens^{1,12,17,23-25}. Human health is also affected by the contamination of wild fish for human consumption with antimicrobial residues. These can potentially alter the human microbiome^{26,27} and select for ARB in the meat of wild fish and aquacultural products, factors all able to stimulate horizontal gene transfer of antimicrobial resistance genes^{1,26,27}.

Our studies strongly suggest that the extended geographical areas used by aquacultural activities in Chile are hotspots for the generation of ARB and the dissemination of these bacteria and their antimicrobial resistance genes worldwide^{1,11,12,17,18,22-24}.

Use of antimicrobials in aquaculture has other impacts on the environment besides its impact on human health produced by selection of ARB and antimicrobial resistan-

ce genes. Their use can decrease biological diversity in the environment with the theoretical potential of facilitating the appearance of toxic algal blooms and selection for epidemic resistant human pathogens of marine origin, i.e., *Vibrio parahaemolyticus* and zoonotic pathogens of aquatic origin^{12,28,29}.

It has been recently found that the bacterial diversity in a salmon farming area is reduced compared to that from a control site lacking salmon aquaculture activities, and it appears that the function of these bacteria in the ecosystem is also different³⁰. The decrease in biological diversity produced by this excessive use of antimicrobials also facilitates bacterial infections of the cultured fish with new and emerging fish pathogens resistant to antimicrobials, i.e., *Piscirickettsia salmonis*, that together with algal blooms constitute a major menace to the aquaculture industry^{1,31,32}. For example, approximately, half of the isolated *P. salmonis* in Chile, are resistant to quinolones reflecting the previous heavy use of these therapeutics in the industry³².

Our investigations have thus indicated that the indiscriminate use of antimicrobials constitute a risk to human, animal and environmental health as well as to the aquaculture industry itself. For this reason, we proposed a set of measures in 2011 that needed to be implemented by the Chilean aquaculture industry and by the Chilean animal and human health regulatory entities to ameliorate these impacts^{12,17}. Many of our recommendations coincide with those of the proposed National Plan to Prevent and Combat Antimicrobial Resistance. However, we would like to suggest that the plan should also incorporate measures based on the One Health paradigm to register and



control antimicrobial use in animals and humans^{1,3,33}. The *One Health* paradigm specifies that protection of human health is achieved through the implementation of hygienic measures in the industrial rearing of fish that decrease the use of antimicrobials, because as we and others have shown, animal and human health are interlocked and have reciprocal interactions^{1,3,12,33,34,35}. The most important elements facilitating emergence of ARB and dissemination of antimicrobial resistance genes impacting human health in Chile could be prevented by appropriate veterinary attention to the hygiene and well-being of animals, especially those of fish under aquaculture.

Acknowledgements: This work has been supported by grants from the Lenfest Ocean Program/Pew Charitable Trusts (F C C and A H B), FONDECYT, Núcleo de Investigación (NU02/2016, Universidad de Los Lagos and Basal Program-CONICYT FB001) (A H B), and by a fellowship from the John Simon Guggenheim Foundation (F C C).

Abstract

Emergence and dissemination of bacteria resistant to multiple antimicrobials is currently one of the major global threats to human and animal public health. Veterinary use of antimicrobials in both developing and developed countries is many-fold greater than their use in human medicine and is an important determinant in selection of

these resistant organisms. Our findings on antimicrobial use in salmon aquaculture and their impact on the environment and human health are highly relevant in light of the recently outlined National Plan Against Antimicrobial Resistance in Chile. Ninety-five percent of tetracyclines, phenicols and quinolones imported into Chile between 1998 and 2015 were for veterinary use, mostly in salmon aquaculture. Excessive use of antimicrobials at aquaculture sites was associated with antimicrobial residues in marine sediments 8 km distant, and the presence of resistant marine bacteria harboring easily transmissible resistance genes in mobile genetic elements to these same antimicrobials. Moreover, quinolone and integron resistance genes in human pathogens isolated from patients in coastal regions adjacent to aquaculture sites were sequence-identical to genes isolated from regional marine bacteria, consistent with genetic communication between bacteria in these different environments. Passage of antimicrobials into the marine environment can potentially diminish environmental diversity, contaminate wild fish for human consumption, and facilitate the appearance of harmful algal blooms and resistant zoonotic and human pathogens. Our findings suggest that changes in aquaculture in Chile that prevent fish infections and decrease antimicrobial usage will prove a determining factor in preventing human and animal infections with multiply antimicrobial-resistant bacteria in accord with the modern paradigm of *One Health*.

Referencias bibliográficas

- Cabello F C, Godfrey H P, Buschmann A H, Dölz H J. Aquaculture as yet another environmental gateway to the development and globalization of antimicrobial resistance. *Lancet Infect Dis* 2016; 16 (7): e127-e133. Review. PubMed PMID: 27083976.
- Allcock S, Young E H, Holmes M, Gurdasani D, Dougan G, Sandhu M S, et al. Antimicrobial resistance in human populations: challenges and opportunities. *Glob Health Epidemiol Genom* 2017; 2: e4. Review. PubMed PMID: 29276617.
- National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine, Health and Medicine Division, Board on Global Health, Forum on Microbial Threats. *Combating Antimicrobial Resistance: A One Health Approach to a Global Threat: Proceedings of a Workshop*. Washington, DC: National Academies Press (USA); 2017. PubMed PMID: 29227604.
- Lekshmi M, Ammini P, Kumar S, Varela M F. The food production environment and the development of antimicrobial resistance in human pathogens of animal origin. *Microorganisms* 2017; 5(1). pii: E11. PubMed PMID: 28335438.
- Venter H, Henningsen M L, Begg S L. Antimicrobial resistance in healthcare, agriculture and the environment: the biochemistry behind the headlines. *Essays Biochem* 2017; 61: 1-10. Review. PubMed PMID: 28258225.
- Cabello F C, Godfrey H P. Even therapeutic antimicrobial use in animal husbandry may generate environmental hazards to human health. *Environ Microbiol* 2016; 18: 311-3. PubMed PMID: 26913818.
- WHO: Health indicators of sustainable agriculture, food and nutrition security in the context of the Rio+20 UN Conference on Sustainable Development. www.who.int/hia/green_economy/indicators_food.pdf. 2012 (accedido 30 de enero de 2018).
- Mie A, Andersen H R, Gunnarsson S, Kahl J, Kesse-Guyot E, Rembiałkowska E, et al. Human health implications of organic food and organic agriculture: a comprehensive review. *Environ Health*. 201; 16 (1): 111. Review. PubMed PMID: 29073935.
- Henriksson P J G, Rico A, Troell M, Klinger D H, Buschmann A H, Saksida S, et al. Unpacking factors influencing antimicrobial use in global aquaculture and their implication for management: a review from a systems perspective. *Sustain Sci* 2017. <https://doi.org/10.1007/s11625-017-0511-8> (accessed 2018-01-31).
- Cabello F C. Antibióticos y acuicultura. Un análisis de sus potenciales impactos para el medio ambiente y la salud humana y animal en Chile. Análisis de Políticas Públicas. Organización Terram, Publicación N° 17, 2003. Santiago, Chile http://www.terram.cl/docs/App17_Antibioticos_y_Acuicultura.pdf
- Cabello F C. Heavy use of prophylactic antibiotics in aquaculture: a growing problem for human and animal health and for the environment. *Environ Microbiol* 2006; 8: 1137-44. Review. PubMed PMID: 16817922.
- Cabello F C, Godfrey H P, Tomova A, Ivanova L, Dölz H J, Millanao A, et al. Antimicrobial use in aquaculture re-examined: its relevance to antimicrobial resistance and to animal and human health. *Environ Microbiol*. 2013; 15: 1917-42. Review. PubMed PMID: 23711078.
- Watts J E M, Schreier H J, Lanska L, Hale M S. The rising tide of antimicrobial resistance in aquaculture: sources, sinks and solutions. *Mar*



- Drugs 2017;15(6). pii: E158. Review. PubMed PMID: 28587172.
- 14.- Cabello F C, Godfrey H P. Comment on: Transferable resistance to colistin: a new but old threat. *J Antimicrob Chemother* 2017; 72: 636-637. PubMed PMID: 27733518.
- 15.- Cabello F C, Tomova A, Ivanova L, Godfrey H P. Aquaculture and *mcr* colistin resistance determinants. *MBio* 2017; 8 (5). pii: e01229-17. PubMed PMID: 28974615.
- 16.- Plan Nacional Contra la Resistencia a los Antimicrobianos. Ministerio de Salud, Chile. 2017. https://urldefense.proofpoint.com/v2/url?u=http-3A_diprece.minsal.cl_programas-2Dde-2Dsald_programas-2Denfermedades-2Dtransmisibles_resistencia-2Dantimicrobiana_&d=DwIFAg&c=A51OX6aSaU1ywwq_3bUC2Q&r=4DNr_1PeSVT7RodmQ9igLgkBPxPyAqxHVAHAbkq_asQ&m=sB3LTVdFP6TIU_hMspHRdJnGl4Uxtt2SwTUKFY2DWTa&s=5BPmkphcQEfEWYjlpuKCE9JBvOdeFIyBOJRP-fuGIpg&e= (accessed, 01-30-2018).
- 17.- Millanao A B, Barrientos H M, Gómez C C, Tomova A, Buschmann A, Dölz H J, et al. Uso inadecuado y excesivo de antibióticos: Salud pública y salmonicultura en Chile. *Rev Med Chile* 2011; 139: 107-18. Review. PubMed PMID: 21526325.
- 18.- Buschmann A H, Tomova A, López A, Maldonado M A, Henríquez L A, Ivanova L, et al. Salmon aquaculture and antimicrobial resistance in the marine environment. *PLoS One*. 2012;7(8): e42724. PubMed PMID: 22905164.
- 19.- Siegel-Tike C S. Estudio cualitativo y cuantitativo de los fenicoles y tetraciclinas importadas y autorizadas para uso y disposición en medicina y en veterinaria en Chile, en el período 2013-2015. Consideraciones sobre su impacto para la salud pública y el medio ambiente. 2016. Tesis. Escuela de Química y Farmacia. Universidad Austral, Valdivia. Chile.
- 20.- Barrientos-Schaffeld C S. Estudio cualitativo y cuantitativo de las quinolonas y las fluorquinolonas importada y autorizadas para uso y disposición en medicina y en veterinaria en Chile, en el período 2013-2015. Consideraciones sobre su impacto para la salud pública y el medio ambiente. 2016. Tesis. Escuela de Química y Farmacia. Universidad Austral, Valdivia. Chile.
- 21.- Miranda C D, Kehrenberg C, Ulep C, Schwarz S, Roberts M C. Diversity of tetracycline resistance genes in bacteria from Chilean salmon farms. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47: 883-8. PubMed PMID: 12604516.
- 22.- Aedo S, Ivanova L, Tomova A, Cabello F C. Plasmid-related quinolone resistance determinants in epidemic *Vibrio parahaemolyticus*, uropathogenic *Escherichia coli*, and marine bacteria from an aquaculture area in Chile. *Microb Ecol* 2014; 68: 324-8. PubMed PMID: 24760167.
- 23.- Shah S Q, Cabello F C, L'abée-Lund T M, Tomova A, Godfrey H P, Buschmann A H, et al. Antimicrobial resistance and antimicrobial resistance genes in marine bacteria from salmon aquaculture and non-aquaculture sites. *Environ Microbiol* 2014; 16: 1310-20. PubMed PMID: 24612265.
- 24.- Tomova A, Ivanova L, Buschmann A H, Rioseco M L, Kalsi R K, Godfrey H P, et al. Antimicrobial resistance genes in marine bacteria and human uropathogenic *Escherichia coli* from a region of intensive aquaculture. *Environ Microbiol Rep* 2015; 7: 803-9. PubMed PMID: 26259681.
- 25.- Tomova A, Ivanova L, Buschmann A H, Godfrey H P, Cabello F C. Plasmid-mediated quinolone resistance (PMQR) genes and class I integrons in quinolone-resistant marine bacteria and clinical isolates of *Escherichia coli* from an aquacultural area. *Microb Ecol* 2018; 75: 104-112. PubMed PMID: 28642992.
- 26.- Fortt A Z, Cabello F C, Buschmann A H. Residuos de tetraciclina y quinolonas en peces silvestres en una zona costera donde se desarrolla la acuicultura del salmón en Chile. *Rev Chilena Infectol* 2007; 24: 14-8.
- 27.- Brinkac L, Voorhies A, Gómez A, Nelson K E. The threat of antimicrobial resistance on the human microbiome. *Microb Ecol* 2017; 74: 1001-8. Review. PubMed PMID: 28492988.
- 28.- Hernández C G, Ulloa J, Vergara J A O, Espejo R T, Cabello F C. Infecciones por *Vibrio parahaemolyticus* e intoxicaciones por algas: problemas emergentes de salud pública en Chile. *Rev Med Chile* 2005; 133: 1081-8. Review. PubMed PMID: 16311702.
- 29.- Cabello F C, Espejo R T, Hernández M C, Rioseco M L, Ulloa J, Vergara J A. *Vibrio parahaemolyticus* O3:K6 epidemic diarrhea, Chile, 2005. *Emerg Infect Dis* 2007; 13: 655-6. PubMed PMID: 17561569.
- 30.- Hornick K M, Buschmann A H. Insights into the diversity and metabolic function of bacterial communities in sediments from Chilean salmon aquaculture. 2018. *Ann Microbiol* 2018; 68: 63-77.
- 31.- Cabello F C, Godfrey H P. Florecimiento de algas nocivas (FANs), ecosistemas marinos y la salud humana en la Patagonia chilena. *Rev Chilena Infectol* 2016; 33: 559-560. PubMed PMID: 28112340.
- 32.- Henríquez P, Kaiser M, Bohle H, Bustos P, Mancilla M. Comprehensive antibiotic susceptibility profiling of Chilean *Piscirickettsia salmonis* field isolates. *J Fish Dis* 2016; 39: 441-8. PubMed PMID: 26660665.
- 33.- Boqvist S, Söderqvist K, Vågsholm I. Food safety challenges and One Health within Europe. *Acta Vet Scand* 2018; 60: 1. PubMed PMID: 29298694.
- 34.- Argudín M A, Deplano A, Meghraoui A, Dodémont M, Heinrichs A, Denis O, et al. Bacteria from animals as a pool of antimicrobial resistance genes. *Antibiotics (Basel)* 2017; 6 (2). pii: E12. doi: 10.3390/antibiotics6020012. Review. PubMed PMID: 28587316; PubMed Central PMCID: PMC5485445.
- 35.- Webb H E, Angulo F J, Granier S A, Scott H M, Loneragan G H. Illustrative examples of probable transfer of resistance determinants from food animals to humans: Streptothricins, glycopeptides, and colistin. *F1000Res*. 2017 Oct 5;6:1805. doi: 10.12688/f1000research.12777.1. eCollection 2017. Review. PubMed PMID:29188021; PubMed Central PMCID: PMC5686510.