



UNIVERSIDADE DA CORUÑA

Facultade de Ciencias

Grao en Bioloxía

Memoria do Traballo de Fin de Grao

**Emprego de antibióticos na industria alimentaria e
implicacións na aparición de resistencias
bacterianas.**

*Uso de antibióticos en la industria alimentaria e
implicaciones en la aparición de resistencias bacterianas.*

*Antibiotic use in the food industry and its implications in the
emergence of bacterial resistance.*

Noelia Vigo Díaz

Curso: 2021 - 2022

Xuño 2022

Director: José Enrique Torres Vaamonde

ÍNDICE

Resumo

Palabras clave

| | |
|---|----|
| Introdución..... | 1 |
| Obxectivos..... | 4 |
| Desenvolvemento do tema..... | 4 |
| Industria gandeira e avícola | 4 |
| Agricultura | 8 |
| Acuicultura..... | 10 |
| Medidas para a prevención e control da resistencia a antibióticos | 12 |
| Conclusións | 16 |
| Bibliografía | 18 |

RESUMO

Os antibióticos son un dos maiores logros da medicina moderna. Dende o seu descubrimento contribuíron ao control das enfermidades infecciosas e salvaron incontables vidas. A resistencia antimicrobiana, provocada maioritariamente polo uso imprudente de antibióticos na industria alimentaria e na medicina animal e humana, é xa unha das maiores ameazas sanitarias a nivel mundial. A necesidade de alimentar a unha poboación que non deixa de medrar provoca unha intensificación de todos os sistemas de produción do planeta e un incremento da dependencia de antibióticos para manter a súa produtividade. Actualmente, o 80% dos antibióticos vendidos están destinados a animais, e na maioría de casos son empregados con fins non terapéuticos, creando a presión selectiva perfecta para converter a industria alimentaria nun *hotspot* de bacterias resistentes. As enfermidades infecciosas causadas por estes microorganismos son cada vez máis difíciles de tratar e xa provocan 700.000 mortes anuais en todo o mundo. Ao ritmo actual, en 2050 as bacterias resistentes cobraranse 10 millóns de vidas ao ano.

Nesta revisión bibliográfica estudarase o uso de antibióticos en diferentes sectores da industria alimentaria e a súa relación ca aparición de bacterias resistentes, así como as vías de propagación ata os humanos e as posibles alternativas para frear o avance da resistencia antimicrobiana.

Palabras clave

Resistencia antimicrobiana, antibióticos, industria alimentaria, gandaría, acuicultura

RESUMEN

Los antibióticos son uno de los mayores logros de la medicina moderna. Desde su descubrimiento han contribuido al control de las enfermedades infecciosas y han salvado incontables vidas. La resistencia antimicrobiana, provocada mayoritariamente por el uso imprudente de antibióticos en la industria alimentaria y la medicina animal y humana, es ya una de las mayores amenazas sanitarias a nivel mundial. La necesidad de alimentar a una población que no deja de crecer provoca una intensificación de todos los sistemas de producción del planeta y un incremento de la dependencia de antibióticos para mantener su productividad. Actualmente, el 80% de los antibióticos vendidos está destinado a animales, y en la mayoría de los casos con fines no terapéuticos, creando la presión selectiva perfecta para convertir la industria alimentaria en un *hotspot* de bacterias resistentes. Las enfermedades infecciosas causadas por estos microorganismos son cada vez más difíciles de tratar y ya provocan 700.000 muertes anuales en todo el mundo. Al ritmo actual, en 2050 las bacterias resistentes se cobrarán 10 millones de vidas al año.

En esta revisión bibliográfica se estudiará el uso de antibióticos en distintos sectores de la industria alimentaria, así como las vías de propagación hasta los humanos y las posibles alternativas para frenar el avance de la resistencia antimicrobiana.

Palabras clave

Resistencia antimicrobiana, antibióticos, industria alimentaria, ganadería, acuicultura

ABSTRACT

Antibiotics are one of the greatest achievements of modern medicine. Since their discovery, they have contributed to the control of infectious diseases and saved countless lives. Antimicrobial resistance, mostly caused by the imprudent use of antibiotics in the food industry and in animal and human medicine, is now one of the greatest global health threats. The need to feed an ever-growing population is leading to an intensification of all production systems around the world and an increased reliance on antibiotics to maintain their productivity. Currently, 80% of antibiotics sold are destined for animals, and in most cases for non-therapeutic purposes, creating the perfect selective pressure to turn the food industry into a hotspot for resistant bacteria. Infectious diseases caused by these microorganisms are becoming increasingly difficult to treat and already cause 700,000 deaths worldwide each year. At the current rate, resistant bacteria will claim 10 million lives by 2050.

This review will examine the use of antibiotics in different areas of the food industry, as well as the pathways of spread to humans and potential alternatives to contain the progress of antimicrobial resistance.

Keywords

Antimicrobial resistance, antibiotics, food industry, husbandry, aquaculture

INTRODUCCIÓN

Os antibióticos son compostos químicos, naturais ou sintéticos, que matan ou interfieren no crecemento de bacterias. Son empregados para tratar e previr enfermidades en humanos e animais, e o seu uso constitúe un dos maiores logros da medicina moderna.

A “era dos antibióticos” comeza en 1928 co descubrimento da penicilina polo científico Alexander Fleming. Durante a segunda metade do século XX os antibióticos foron considerados o medicamento milagroso, unha especie de “*magic bullets*” que se dirixían selectivamente aos patóxenos que causaban enfermidades sen afectar ao hóspede. Porén, o propio Fleming xa advertiu da posible resistencia á penicilina se esta se empregaba indebidamente (Zaman et al., 2017).

A resistencia a antibióticos (AMR, *antimicrobial resistance*) é a capacidade dun microorganismo de resistir os efectos dun ou máis axentes antimicrobianos. Os xenes que permiten que as bacterias sobrevivan aos antimicrobianos (AGRs, *antibiotic resistance genes*) non son novidosos. Grazas a análise xenómica de mostras de permafrost descubriuse que os xenes que confiren resistencia á maioría dos antibióticos empregados hoxe en día xa existían fai 30.000 anos (Perry et al., 2016). A pesares de que os microorganismos resistentes son unha parte constante dos ecosistemas, a presión selectiva provocada polo uso humano dos antibióticos fomentou sen dúbida a supervivencia destas formas resistentes.

Parte do reto na loita contra a resistencia a antibióticos reside nas múltiples formas que teñen os microorganismos de responder a presións selectivas (Figura 1). Unha delas é a transmisión vertical de xenes, a clásica evolución darwiniana na que as mutacións xenéticas beneficiosas se transmiten dunha xeración a outra. Porén, os microorganismos, e en especial as bacterias, poden pasar xenes a outros individuos, incluso doutras especies, mediante a transferencia horizontal de xenes (HGT, *horizontal gene transfer*). Os procesos de transmisión horizontal permiten a rápida propagación de xenes beneficiosos a través das comunidades microbianas, aumentando a variabilidade xenética sobre a que actuará a presión selectiva (Hall et al., 2020). O mecanismo máis común e eficiente de transferencia

de xenes son os plásmidos, fragmentos extracromosómicos de DNA capaces de replicarse independentemente do xenoma, e especialmente importantes na propagación de xenes de resistencia a antibióticos. Estes xenes están sobrerrepresentados nos plásmidos e aparecen en maior proporción que no cromosoma en moitas cepas bacterianas, como *Escherichia* e *Shigella*. A facilidade dos plásmidos para intercambiarse entre distintas especies e xéneros, especialmente en comunidades heteroxéneas, permite que a resistencia se estenda e persista incluso en nichos non expostos aos antibióticos (Svara & Rankin, 2011).

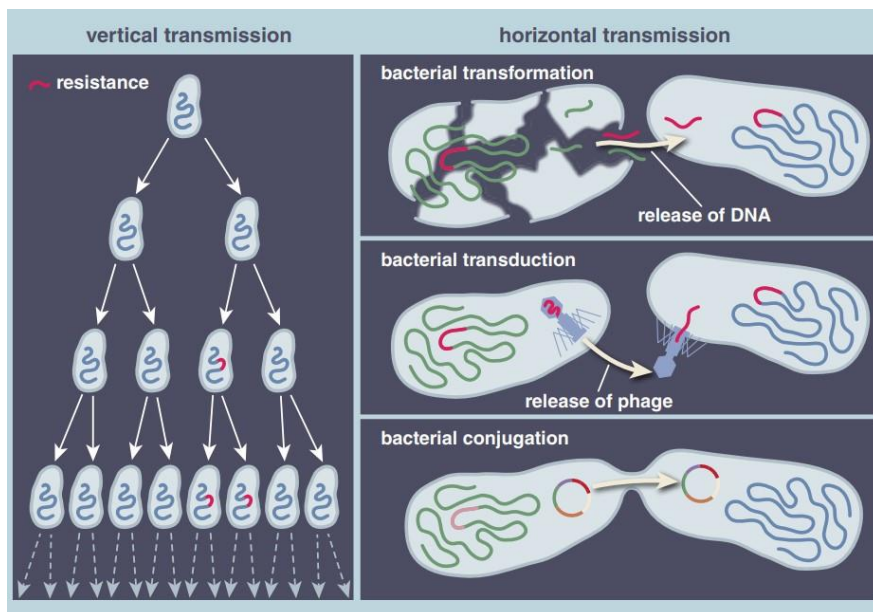


Figura 1: A resistencia a antibióticos pode adquirirse de dúas formas básicas. Na transmisión vertical unha bacteria acumula mutacións no seu xenoma durante a replicación; algúns deses cambios (en vermello) conceden a capacidade de resistir aos antibióticos, e transmítense ás seguintes xeracións. Na transmisión horizontal, os xenes resistentes intercámbianse dun microorganismo a outro. Isto pode ocorrer a través de tres mecanismos: transformación, cando as bacterias recollen os xenes de resistencia de células morta e intégranos no seu propio xenoma; transducción, cando os ARGs son transferidos por bacteriófagos; ou conjugación, cando os xenes se transfiren entre células a través duns tubos denominados pili (Dantas & Sommer, 2014)

Na actualidade a resistencia a antibióticos está aumentando perigosamente en todo o mundo, ameazando a capacidade para tratar enfermidades infecciosas comúns (Figura 2). Un motivo de preocupación aínda maior son as chamadas superbacterias, organismos que presentan múltiples resistencias a antibióticos (MDR, *multidrug resistance*). Debido a isto, as opcións terapéuticas para tratar as infeccións que provocan son moi limitadas, polo que se asocian con estancias no

hospital máis prolongadas e unha maior mortalidade. Nalgúns casos, as cepas multirresistentes desenvolveron tamén unha maior virulencia e transmisibilidade (Aslam et al., 2018). A lista de infeccións difíciles de tratar debido á perda de eficacia dos antibióticos é cada vez maior, como a pneumonía, a tuberculose, a gonorrea ou as enfermidades transmitidas polos alimentos. Se non se toman medidas urxentes o mundo entrará nunha era post-antibiótica, na que as infeccións comúns e as lesións menores poden volver a matar (WHO, 2022).

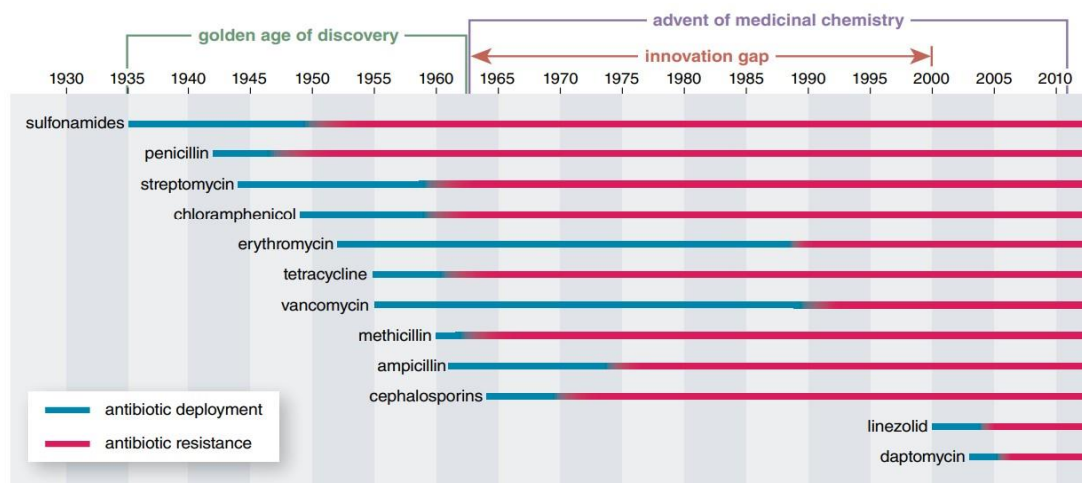


Figura 2: O desenvolvemento clínico de novos antibióticos (barras azuis) foi seguido rapidamente pola evolución de bacterias capaces de resistir os seus efectos (vermello). Dende os anos 70 a taxa de propagación de resistencia supera con creces o ritmo de desenvolvemento de novos fármacos (Dantas & Sommer, 2014).

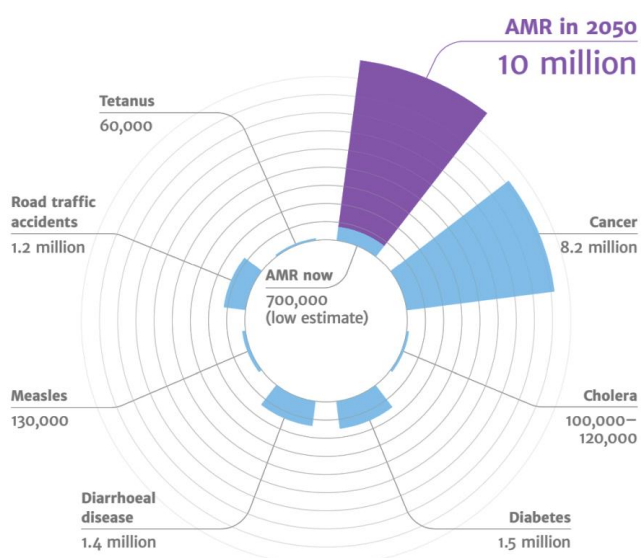


Figura 3: Estima do número de mortes atribuíbles á resistencia antimicrobiana actualmente e previsión para o ano 2050 en comparación con outras causas (O'Neill, 2016).

A AMR é responsable de 33.000 mortes ao ano só na Unión Europea (EFSA BIOHAZ Panel, 2021) e de 700.000 en todo o mundo. Calcúlase que, de non adoptar medidas para deter a súa expansión, no ano 2050 será responsable de 10 millóns de mortes anualmente (Figura 3), superando ao cancro, e provocará un custo económico de 100 billóns de dólares (O'Neill, 2016).

OBXECTIVOS

O obxectivo deste traballo é realizar unha revisión do coñecemento actual sobre a aparición de resistencias bacterianas debido ao uso de antibióticos na industria alimentaria.

DESENVOLVEMENTO DO TEMA

Industria gandeira e avícola

A demanda de proteína animal está aumentando en todo o planeta, pero a súa produción depende do emprego de axentes antimicrobianos para manter a saúde e produtividade das granxas (Tiseo et al., 2020).

En termos relativos, os humanos e os animais utilizan cantidades semellantes de antibióticos pero, dado que a biomasa de animais criados para a alimentación supera con creces a biomasa dos humanos, é máis probable que aparezan novas mutacións de resistencia nos animais (Van Boeckel et al., 2017).

A principal diferenza entre o uso de antibióticos en humanos e animais reside na súa finalidade. Ademais do tratamento de infeccións activas, estes empréganse de xeito profiláctico e como promotores de crecemento. A profilaxe implica a administración de antimicrobianos de xeito preventivo cando un individuo ou parte do rabaño é potencialmente susceptible de contraer unha infección (Cameron & McAllister, 2016).

Dende os anos 60 aumentou o uso de antibióticos como axentes promotores do crecemento cando se aplican en doses subterapéuticas. Os antibióticos incorpóranse aos pensos en pequenas cantidades, o que provoca un aumento da produtividade dos animais (Hassan et al., 2018).

Propuxéronse varios mecanismos como explicación do efecto promotor do crecemento. A administración de cantidades subterapéuticas de antibióticos permite aos animais reducir a enerxía necesaria para o mantemento das bacterias comensais intestinais, dispoñendo así de máis enerxía para o

crecemento (Low et al., 2021). Baixo condicións normais estas bacterias habitan o tracto intestinal e inflúen en factores fisiolóxicos, inmunolóxicos e nutricionais, axudando a manter a saúde do hóspede (Lau et al., 2021). Non obstante, estes microorganismos tamén absorben nutrientes, excretan metabolitos, aumentan a taxa de reemplazo epitelial do intestino e diminúen a dixestión das graxas. Isto pode producir un exceso de crecemento bacteriano no intestino delgado, o que se asocia con mala absorción de nutrientes, perda de peso e detrimento da saúde do animal, afectando, polo tanto, ao crecemento. Incluso a niveis subterapéuticos, os antimicrobianos son capaces de inhibir o crecemento de bacterias patóxenas, mellorando as condicións físicas do animal e favorecendo o crecemento (Low et al., 2021). Ademais, os antibióticos melloran a función da barreira intestinal ao reducir a inflamación da parede e mellorar a absorción de nutrientes (Oh et al., 2019).

A administración de antibióticos en baixas doses de maneira continuada nas granxas dá lugar a unha presión selectiva perfecta para a propagación de bacterias resistentes nos intestinos dos animais (Zalewska et al., 2021). A pesares de que esta práctica está prohibida en varios países, incluída a Unión Europea dende 2006, aínda se empregan antibióticos con fins non terapéuticos en moitas rexións do planeta caracterizadas por unha produción gandeira moi intensiva, como Estados Unidos, China, Rusia, India e Sudáfrica. Nos Estados Unidos calcúlase que un 80% dos antibióticos usados anualmente están destinados a animais, entre os cales se inclúen medicamentos esenciais para o tratamento de infeccións comúns en humanos (Van Boeckel et al., 2015).

Xa no século pasado se demostrou que a aparición de bacterias resistentes correspondía coa introdución de antibióticos nos animais. Cinco meses despois de comezar a engadir tetraciclina no penso nunha granxa de polos, a detección de illados de *Escherichia coli* resistentes á tetraciclina nas mostras fecais dos propietarios da granxa multiplicouse por cinco en comparación cos seus veciños (Levy et al., 1976). A partir destes primeiros traballos, e dado que é unha bacteria comensal moi estendida nos tractos dixestivos de humanos e animais, *E. coli* é un dos microorganismos indicadores empregados no seguimento da AMR en

gando. Estudos máis recentes realizados en China indican que, dos illados de *E. coli* obtidos de mostras de polos, patos, porcos e vacas, un 94% presentaban AMR e que o 83% eran resistentes a, polo menos, 3 clases diferentes de antibióticos, especialmente tetraciclina, ácido nalidíxico, sulfametoxazol e ampicilina (Yassin et al., 2017).

Outro microorganismo importante na monitorización da AMR é o xénero *Campylobacter*, cuxos membros son os maiores responsables de infeccións gastrointestinais transmitidas por alimentos na Unión Europea (EFSA & ECDC, 2021). Nos Países Baixos, a resistencia a quinolonas en mostras de *Campylobacter jejuni* aumentou do 0 ao 11% en humanos e do 0 ao 14% en produtos avícolas entre 1982 e 1989, coincidindo coa introdución da enrofloxacina para uso veterinario en 1987. As infeccións por *C. jejuni* débense case exclusivamente a produtos avícolas contaminados, sendo moi rara a transmisión entre humanos, polo que a aparición da resistencia non podería ser consecuencia do uso clínico de fluoroquinolonas (Endtz et al., 1991). Actualmente séguense a demostrar as altas taxas de resistencia a antibióticos en *Campylobacter spp.* en explotacións gandeiras e porcinas, particularmente ás fluoroquinolonas, tetraciclinas e macrólidos (Tang et al., 2020).

Identificáronse bacterias resistentes no solo, nos excrementos dos animais e nas cortes, currais e prados das granxas, polo que a produción gandeira e avícola constitúe un dos focos máis críticos no desenvolvemento e propagación de ARGs (Figura 4) (Zalewska et al., 2021).

A propagación de bacterias resistentes ao longo da cadea alimentaria ata chegar aos seres humanos pode darse por contacto directo cos animais. Este prodúcese tras a exposición inmediata do ser humano con animais e sustancias biolóxicas (sangue, feces, leite, saliva, etc.), e favorece a rápida diseminación de bacterias de hóspede a hóspede. Os traballadores como veterinarios, gandeiros, persoal dos matadoiros e manipuladores de alimentos corren risco de ser infectados por cepas resistentes (Founou et al., 2016).

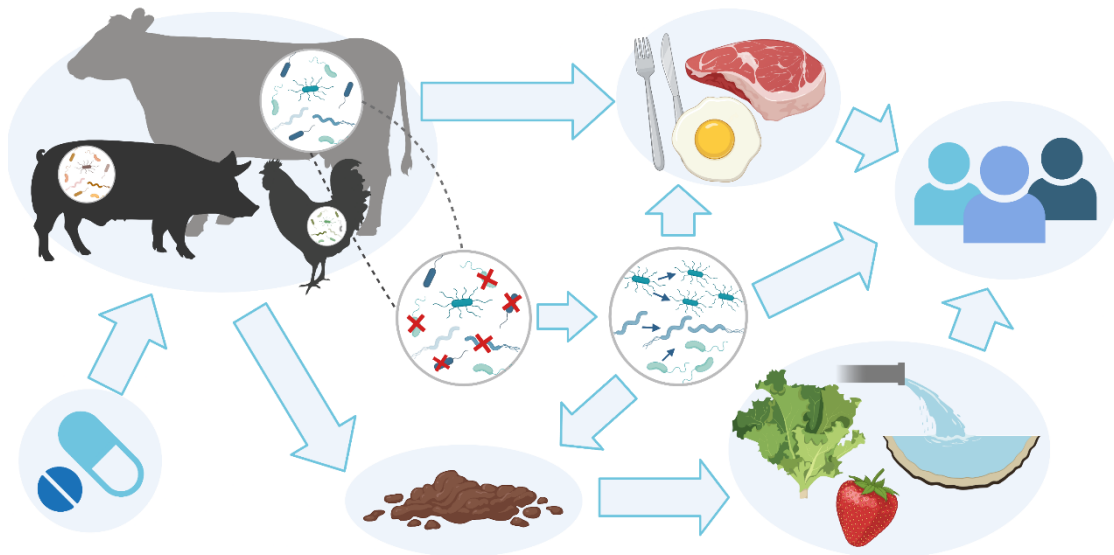


Figura 2: Transmisión da AMR ao longo da cadea alimentaria. A administración de antibióticos na gandaría e avicultura provoca unha presión selectiva que favorece a aparición e expansión de formas resistentes. Estes microorganismos, ao igual que os residuos de antibióticos sen metabolizar, poden pasar ao medio ambiente a través dos excrementos dos animais e contaminar cultivos, auga e solo; ou entrar en contacto directamente coa poboación a través dos alimentos (Founou et al., 2016; Low et al., 2021; Zalewska et al., 2021).

O transporte é outra ruta de transmisión de contaminación entre diferentes granxas, xa que habitualmente se xuntan animais de diferentes orixes nun mesmo vehículo. Un exemplo é o transporte de aves, que son cargadas dentro de gaiolas ou contedores dentro dos camións ata o matadoiro. Na Unión Europea, estes contedores límpanse e desinfectanse antes de volver a empregalo, pero esta práctica non se leva a cabo en todos os países. Porén, moitos estudos informan que seguen contaminados con bacterias do xénero *Campylobacter* incluso despois da súa limpeza. Cando os animais chegan ao matadoiro poden illarse bacterias *Campylobacter* no 99% das mostras das caixas de transporte. Tras o proceso de desinfección a taxa de contaminación seguía sendo do 91%, e incluso se identificaban un maior número de cepas diferentes, probablemente debido á reciclaxe da auga empregada para o lavado e a capacidade de *Campylobacter spp.* de sobrevivir na auga a pesares da presenza de desinfectantes (Rasschaert et al., 2020).

Os matadoiros e plantas de procesado poden contaminarse con bacterias resistentes a partir dos animais, as feces, o derrame do contido intestinal e os cadáveres. Posteriormente, as máquinas, os traballadores e os aerosois poden servir como vías de transmisión (EFSA BIOHAZ Panel, 2021). *Listeria*

monocytogenes é un patóxeno omnipresente transmitido polos alimentos que causa listeriose, unha infección grave en humanos. Atopáronse cepas resistentes desta bacteria en máquinas, desaugadoiros e superficies de plantas de procesado de carne (Noll et al., 2018; Rugna et al., 2021).

Agricultura

As froitas e hortalizas soen albergar microbiota epífita non patóxena. Sen embargo, moitos estudos sinalan a contaminación con patóxenos ou diferentes tipos de xenes de resistencia a antibióticos. Dita contaminación pode producirse antes da colleita a través do solo e os fertilizantes orgánicos ou a auga de rego. Polo tanto, calquera verdura contaminada destinada ao consumo en cru pode actuar como vector para a propagación de resistencia bacteriana aos seres humanos (Hölzel et al., 2018). Os brotes periódicos de enfermidades transmitidas polo consumo de produtos agrícolas contaminados son motivo de preocupación e serven como recordatorio da importancia da seguridade microbiolóxica nesta industria (EFSA & ECDC, 2021).

O solo é unha fonte crítica de xenes de resistencia antimicrobiana, non só pola presenza dunha diversa gama de bacterias capaces de producir antibióticos naturais, senón principalmente pola aplicación de fertilizantes de orixe fecal nos campos de cultivo. A fertilización con refugallos animais está estendida mundialmente, e desempeña un papel esencial no ciclo de nutrientes fundamentais para o crecemento e desenvolvemento óptimo dos cultivos, como o fósforo e o nitróxeno (Zalewska et al., 2021).

Esta práctica é tamén un método efectivo para a xestión dos residuos, xa que unha única vaca leiteira pode crear 54 kg de excrementos ao día, un porco 6,4kg, unha ovella 2,5kg e un polo 0,2g. A gandaría chega a producir un total de 55.000 millóns de toneladas anuais de esterco a nivel mundial (Giroto & Cossu, 2017).

Os fertilizantes animais son unha fonte de bacterias resistentes que poden transferirse ao medio e sobrevivir nel incluso durante varios meses (Merchant et al., 2012), alén de antibióticos sen metabolizar, xa que se calcula que o 75% dos

fármacos administrados na gandaría son excretados nas feces e urina (Zalewska et al., 2021). Polo tanto, é extremadamente importante desenvolver estratexias eficaces para o tratamento dos excrementos co fin de eliminar, ou polo menos reducir, o risco de liberar antibióticos, bacterias resistentes e xenes de resistencia ao medio ambiente (Zalewska & Popowska, 2020).

Os antibióticos poden reaccionar e acumularse de forma específica na terra despois da aplicación do fertilizante, dependendo das propiedades fisicoquímicas do solo e das condicións climáticas. A lixiviación dos antibióticos é maior en terreos areosos que nos arxilosos. Por outra banda, os fármacos como norfloxacin e tetraciclina persisten máis tempo na superficie do terreo, ao contrario que a sulfametina e a eritromicina, que tenden a chegar a capas máis profundas do solo e ás augas subterráneas (Pan & Chu, 2017).

Calcúlase que a biotransformación e degradación completa dos axentes antimicrobianos pode tardar, no caso do esterco vacún, ata 150 días. Así e todo, algúns antibióticos con gran capacidade de adsorción, como as tetraciclinas e as quinolonas, poden adherirse activamente ás partículas do chan, o que fai que non sexan biodegradables. Deste xeito poden acumularse no solo agrícola, cambiando a estrutura natural da comunidade microbiana e promovendo a persistencia dos xenes de resistencia (Zalewska et al., 2021).

Hai varias explicacións para a crecente abundancia de ARGs do solo. En primeiro lugar, trala aplicación do fertilizante pode producirse a transferencia horizontal de xenes entre as bacterias presentes na materia fecal e as do medio ambiente. Por outra banda, os residuos dos compostos antibióticos non metabolizados e excretados poden crear unha presión selectiva que induza a aparición de novas mutacións e promova o mantemento das preexistentes. Por último, os refugallo animais ricos en materia orgánica poden potenciar o crecemento das bacterias resistentes propias do terreo (Xie et al., 2018). Ademais, os metais pesados presentes no solo actúan como factores de estrés ambientais, e dado que os antibióticos e os metais pesados poden compartir as mesmas respostas reguladoras, a súa presenza tamén promove a selección dos xenes de

resistencia a través de mecanismos de co-selección e resistencia cruzada (Imran et al., 2019).

As prácticas agrícolas varían considerablemente segundo as necesidades do produto, as condicións climáticas do lugar de produción e os sistemas de cultivo. Ditas prácticas, xunto coas características intrínsecas das colleitas, determinan o risco de diseminación de resistencia antimicrobiana (EFSA BIOHAZ Panel, 2021). Por exemplo, se o alimento de interese é unha semente resgardada por unha vaina ou cáscara estará máis protexido durante o crecemento que as follas ou as raíces (Cerqueira et al., 2019). Os cultivos de raíz son especialmente susceptibles de contaminarse ao estar en contacto estreito co solo, mentres que as hortalizas de folla presentan unha gran superficie de exposición a AGRs a través de auga de rego (Christou et al., 2019).

Acuicultura

Os recursos pesqueiros do planeta son cada vez máis limitados, polo que a crecente demanda de proteína animal provoca a necesidade de aumentar a produción acuícola mundial. En 2018 dita produción acadou os 114,5 millóns de toneladas de peixe e marisco (FAO, 2020).

Do mesmo xeito que na gandaría e avicultura, as instalacións dedicadas á piscicultura varían en tamaño e nivel de control de parámetros, pero o seu obxectivo principal é maximizar a velocidade de crecemento e a intensidade da produción. A tendencia actual é empregar explotacións intensivas que, a pesares de ter rendementos moi altos, provocan un aumento na densidade poboacións que pode derivar en problemas de calidade da auga. Estes factores favorecen a aparición de brotes de patóxenos, polo que a acuicultura intensiva depende do uso de axentes antimicrobianos para manter a súa produción. A dificultade de tratar aos peixes de xeito individual provoca que na acuicultura se administren os antimicrobianos de xeito profiláctico a poboacións enteiras (Watts et al., 2017).

Ademais, non existen demasiados datos sobre a cantidade de antibióticos empregados na acuicultura, xa que son poucos os países con regulacións ao

respecto, como Europa, América do Norte ou Xapón. Non obstante, o 90% da produción acuícola procede de países en vías de desenvolvemento que carecen de normativas sobre o emprego de antibióticos, o que provoca unha gran variabilidade no uso dos mesmos. Un exemplo é a produción de salmón (*Salmo spp.*), na que uso de antibióticos por tonelada varía entre 0,02-0,39g en países como Escocia ou Noruega pero que acada os 660g en Chile (Watts et al., 2017). Os fármacos antimicrobianos poden quedar de xeito residual nos tecidos do peixe e marisco de acuicultura. Ademais, debido a que estes animais non os metabolizan eficazmente, calcúlase que entre o 70 e o 80% dos antibióticos administrados son excretados á auga, o que é especialmente preocupante xa que o medio acuático ofrece moita facilidade para a dispersión de residuos de fármacos, patóxenos, e xenes de resistencia (Figura 5). Múltiples estudos indican a alta presenza de bacterias resistentes nas áreas próximas a instalacións acuícolas. As análises moleculares demostran ademais que os xenes de resistencia implicados na AMR asociada a esta industria presentan unha gran similitude cos detectados en bacterias terrestres, responsables de enfermidades humanas e animais (Santos & Ramos, 2018).

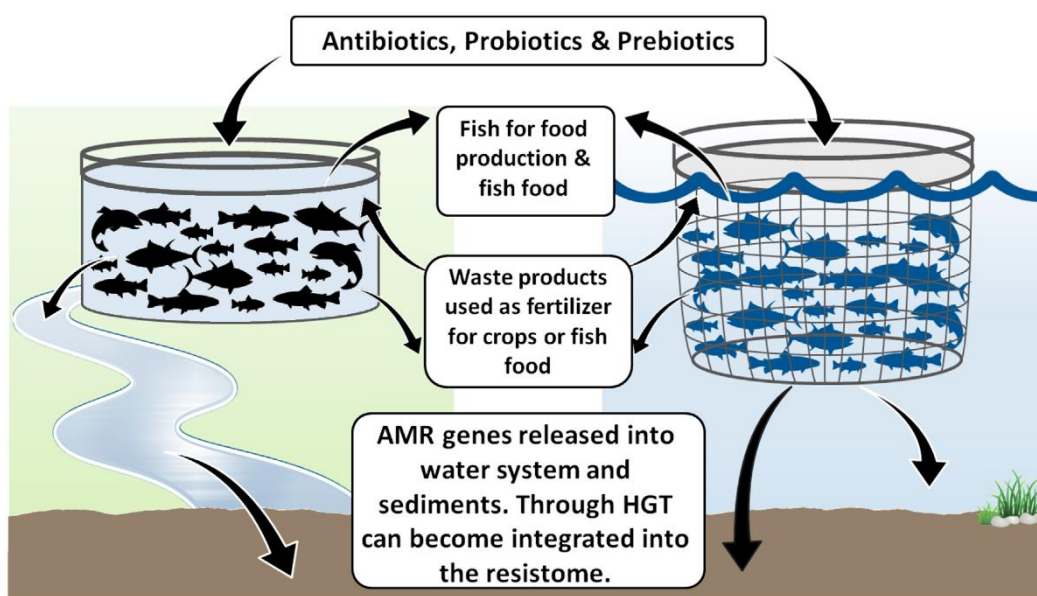


Figura 3: Rutas de transmisión dos xenes de resistencia antimicrobiana dende sistemas acuícolas pechados (esquerda) e abertos (dereita) ata a auga e os sedimentos (Watts et al., 2017).

As bacterias do xénero *Aeromonas* son consideradas indicadoras da aparición e establecemento da AMR en piscifactorías, alén de causar infeccións nos seres

humanos e ser, polo tanto, un importante patóxeno zoonótico. O primeiro patóxeno de peixes no que se atopou resistencia a antibióticos foi *Aeromonas salmonicida*, que xa no ano 1957 era resistente a sulfatiazol e tetraciclina. Outro patóxeno zoonótico dos peixes, as bacterias do xénero *Vibrio*, tamén mostran resistencia a múltiples antibióticos. Durante un brote de vibriose en peixes de auga doce en 1973 descubriuse que a maioría dos illados de *Vibrio anguillarum* posuían plásmidos de resistencia a sulfonamidas, cloranfenicol, tetraciclina e estreptomicina. *Vibrio* e *Aeromonas* son os dous organismos resistentes máis identificados en diversos peixes, como o siluro, a tilapia e a carpa koi (Preena et al., 2020).

En canto a microorganismos Gram positivos, *Streptococcus* e *Staphylococcus* tamén son patóxenos zoonóticos de peixes. Atopáronse cepas de *Staphylococcus aureus* con resistencia múltiple asociadas a granxas acuícolas australianas e, en Taiwán e Xapón, illados de *Streptococcus dysgalactiae* resistentes á tetraciclina e aos macrólidos (Preena et al., 2020).

Medidas para a prevención e control da resistencia a antibióticos

O concepto *One Health* refírese ao esforzo colaborativo e interdisciplinar para lograr unha saúde óptima para as persoas, os animais, as plantas e o medio ambiente. Está baseado na dependencia mutua entre os seres humanos e os animais, e o recoñecemento de que non só comparten un mesmo entorno, senón tamén moitas enfermidades infecciosas (McEwen & Collignon, 2018).

Este enfoque foi adaptado por entidades supranacionais para facer fronte á ameaza global da resistencia a antibióticos. A Organización Mundial da Saúde publicou en 2016 o Plan de acción mundial contra a resistencia antimicrobiana, que contén cinco obxectivos estratéxicos: aumentar a concienciación e comprensión sobre o uso de antibióticos e a resistencia aos mesmos, reforzar o coñecemento mediante a vixilancia e a investigación, reducir as enfermidades infecciosas, optimizar o uso de antibióticos, e mobilizar recursos para o desenvolvemento da ciencia (Founou et al., 2016).

A innegable relación entre o emprego xeneralizado de antibióticos na produción de alimentos e a aparición e propagación da AMR fai que a maneira máis directa de frear esta ameaza global sexa a optimización do uso destes axentes. O primeiro é mellorar as condicións de cría de animais e os sistemas de xestión das granxas. Os animais mantéñense sans cando reciben alimentos equilibrados e de boa calidade e cando as instalacións se manteñen cunha hixiene óptima. Ademais, deberían establecerse directrices para a aplicación de boas prácticas en materia de xestión de residuos e augas residuais (Zalewska et al., 2021).

Neste momento a supresión total da administración de antibióticos no gando é imposible, xa que provocaría grandes alteracións na produción mundial. Unha solución factible a este problema sería o emprego de axentes alternativos que sexan eficaces e económicos para a prevención de enfermidades e a promoción do crecemento, ao mesmo tempo que se mantén o uso de antibióticos para tratar as enfermidades dos animais, sempre con prescrición veterinaria. Trátase dunha opción viable, xa que está demostrado que un uso controlado dos antibióticos consegue diminuír os niveis de resistencia dunha zona determinada ata os seus parámetros orixinais. Outros tratamentos alternativos aos antibióticos inclúen bacteriófagos, anticorpos, péptidos, *quorum quenching*, probióticos e prebióticos (Low et al., 2021).

Os bacteriófagos son virus que infectan bacterias cunha alta especificidade e que despois se multiplican, provocando finalmente a morte da célula hóspede (Letchumanan et al., 2016). Demostrouse que o uso de cócteles de fagos é eficaz no control de *Campylobacter* en polos (Chinivasagam et al., 2020) é que estes non afectan á microbiota do animal tal como ocorre cos antibióticos (Richards et al., 2019). Ademais da súa función como axente antimicrobiano, a terapia con bacteriófagos tamén exhibe efectos promotores do crecemento cando se administran ao gando, aumentando a ganancia diaria de peso e mellorando a morfoloxía das vilosidades intestinais (Kim et al., 2017).

Os anticorpos son outra posible alternativa aos antibióticos. A inmunoglobulina Y (IgY) está presente en cantidades significativas na xema dos ovos, e forma parte da inmunidade pasiva que a galiña lle proporciona á súa descendencia. A IgY é

eficaz proporcionando protección contra unha ampla gama de patóxenos gastrointestinais en humanos e animais. Estes anticorpos non teñen efectos nocivos, residuos tóxicos ou resistencia a enfermidades nos animais (Karamzadeh-Dehaghani et al., 2020).

Os péptidos antimicrobianos son moléculas peptídicas curtas producidas pola maioría dos seres vivos. Axudan aos organismos unicelulares a competir polos nutrientes e forman parte do sistema inmune dos seres pluricelulares. Os péptidos antimicrobianos poden inhibir ou matar bacterias a concentracións micromolares, a miúdo por mecanismos non específicos, polo que a aparición de resistencias é rara (Ageitos et al., 2017). Ademais, teñen efectos beneficiosos no crecemento, a absorción de nutrientes, a morfoloxía intestinal e a microbiota de porcos e polos, polo que son alternativas adecuadas aos antibióticos convencionais (Wang et al., 2016).

A detección do quórum ou *quorum sensing* é un proceso de comunicación entre células bacterianas que depende da liberación e a resposta a moléculas de sinalización extracelular coñecidas como autoindutores. Estes aumentan a súa concentración de forma sincronizada coa densidade da poboación bacteriana, estimulando unha alteración da expresión xénica (W.-S. Tan et al., 2020). O *quorum quenching* é o mecanismo mediante o cal procariotas e eucariotas interrompen as sinais implicadas en *quorum sensing*. É dicir, empregando inhibidores da detección do quórum é posible controlar o comportamento bacteriano como algúns factores de virulencia, de formación de biofilm e de resistencia. Trátase ademais dun enfoque moi atractivo xa que as bacterias non morren, como pasa cos antibióticos, polo que é menos probable que emerxan resistencias (Bzdrenga et al., 2017).

A incorporación de probióticos e prebióticos nos pensos animais para promover o crecemento é unha práctica bastante establecida na gandaría e acuicultura (Tan et al., 2016). Os probióticos son suplementos microbianos vivos que afectan de forma beneficiosa ao animal mellorando o equilibrio do microbioma intestinal. Estimulan o crecemento do hóspede e inhiben a proliferación de bacterias patóxenas daniñas. Os prebióticos son ingredientes alimentarios non dixeribles

cun efecto positivo ao seu paso polo tracto dixestivo. Está demostrado que melloran a función inmunitaria, as propiedades antivirais e promoven a proliferación de certas bacterias. Porén, presentan efectos secundarios gastrointestinais e teñen un elevado coste de produción (Low et al., 2021).

CONCLUSIÓNS

A demanda dunha poboación crecente e dun sistema de produción cada vez máis intensivo provoca o uso desmesurado de antibióticos na industria alimentaria, sobre todo en países onde non existen regulacións ao respecto. Esta práctica crea a presión selectiva perfecta para a aparición de bacterias resistentes, que xa ameazan a capacidade de tratar enfermidades infecciosas comúns. É indispensable reducir a cantidade de antibióticos empregados con fins non terapéuticos e apostar polo desenvolvemento de tratamentos alternativos que aseguren o mantemento da saúde animal e humana. Só cun esforzo colectivo global e dende un enfoque multidisciplinar se poderá frear o inexorable avance da resistencia antimicrobiana nesta carreira armamentística entre humanos e microorganismos.

CONCLUSIONES

La demanda de una población creciente e de un sistema de producción cada vez más intensivo provoca el uso desmesurado de antibióticos en la industria alimentaria, sobre todo en países donde no existen regulaciones al respecto. Esta práctica crea la presión selectiva perfecta para la aparición de bacterias resistentes, que ya amenazan la capacidad de tratar enfermedades infecciosas comunes. Es indispensable reducir la cantidad de antibióticos empleados con fines no terapéuticos y apostar por el desarrollo de tratamientos alternativos que aseguren el mantenimiento de la salud animal y humana. Solo con un esfuerzo colectivo global y desde un enfoque multidisciplinar se podrá frenar el inexorable avance de la resistencia antimicrobiana en esta carrera armamentística entre humanos y microorganismos.

CONCLUSIONS

The demands of a growing population and an increasingly intensive production system result in the uncontrolled use of antibiotics in the food industry, especially in countries with no regulations on the topic. This practice creates the perfect selective pressure for the emerge of resistant bacteria, which already threaten the ability to treat common infectious diseases. It is essential to reduce de amount of antibiotic used for non-therapeutic purposes and to pursue the development of alternative treatments to ensure de maintenance of animal and human health. Only a global collective effort and a multidisciplinary approach will be able to contain the relentless advance of antimicrobial resistance in this arms race between humans and microorganisms.

BIBLIOGRAFÍA

- Ageitos, J. M., Sánchez-Pérez, A., Calo-Mata, P., & Villa, T. G. (2017). Antimicrobial peptides (AMPs): Ancient compounds that represent novel weapons in the fight against bacteria. *Biochemical Pharmacology*, *133*, 117–138. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2016.09.018>
- Aslam, B., Wang, W., Arshad, M. I., Khurshid, M., Muzammil, S., Rasool, M. H., Nisar, M. A., Alvi, R. F., Aslam, M. A., Qamar, M. U., Salamat, M. K. F., & Baloch, Z. (2018). Antibiotic resistance: a rundown of a global crisis. *Infection and Drug Resistance*, *Volume 11*, 1645–1658. <https://doi.org/10.2147/IDR.S173867>
- Bzdrenga, J., Daudé, D., Rémy, B., Jacquet, P., Plener, L., Elias, M., & Chabrière, E. (2017). Biotechnological applications of quorum quenching enzymes. *Chemico-Biological Interactions*, *267*, 104–115. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2016.05.028>
- Cameron, A., & McAllister, T. A. (2016). Antimicrobial usage and resistance in beef production. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, *7*(1). <https://doi.org/10.1186/s40104-016-0127-3>
- Cerqueira, F., Matamoros, V., Bayona, J., Elsinga, G., Hornstra, L. M., & Piña, B. (2019). Distribution of antibiotic resistance genes in soils and crops. A field study in legume plants (*Vicia faba* L.) grown under different watering regimes. *Environmental Research*, *170*, 16–25. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2018.12.007>
- Chinivasagam, H. N., Estella, W., Maddock, L., Mayer, D. G., Weyand, C., Connerton, P. L., & Connerton, I. F. (2020). Bacteriophages to Control *Campylobacter* in Commercially Farmed Broiler Chickens, in Australia. *Frontiers in Microbiology*, *11*. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00632>
- Christou, A., Papadavid, G., Dalias, P., Fotopoulos, V., Michael, C., Bayona, J. M., Piña, B., & Fatta-Kassinou, D. (2019). Ranking of crop plants according to their potential to uptake and accumulate contaminants of emerging concern.

- Environmental Research*, 170, 422–432.
<https://doi.org/10.1016/j.envres.2018.12.048>
- Dantas, G., & Sommer, M. O. A. (2014). How to Fight Back Against Antibiotic Resistance. *American Scientist*, 102(1), 42–51.
<http://www.jstor.org/stable/43707747>
- EFSA BIOHAZ Panel (European Food Safety Authority Panel on Biological Hazards). (2021). Role played by the environment in the emergence and spread of antimicrobial resistance (AMR) through the food chain. *EFSA Journal*, 19(6). <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2021.6651>
- EFSA (European Food Safety Authority), & ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control). (2021). The European Union One Health 2020 Zoonoses Report. *EFSA Journal*, 19(12).
<https://doi.org/10.2903/j.efsa.2021.6971>
- Endtz, H. Ph., Ruijs, G. J., van Klingeren, B., Jansen, W. H., van der Reyden, T., & Mouton, R. P. (1991). Quinolone resistance in campylobacter isolated from man and poultry following the introduction of fluoroquinolones in veterinary medicine. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 27(2), 199–208.
<https://doi.org/10.1093/jac/27.2.199>
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). (2020). *The State of World Fisheries and Aquaculture 2020*. FAO.
<https://doi.org/10.4060/ca9229en>
- Founou, L. L., Founou, R. C., & Essack, S. Y. (2016). Antibiotic Resistance in the Food Chain: A Developing Country-Perspective. *Frontiers in Microbiology*, 7, 1881. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01881>
- Giroto, F., & Cossu, R. (2017). *Animal Waste: Opportunities and Challenges* (pp. 1–13). https://doi.org/10.1007/978-3-319-48006-0_1
- Hall, R. J., Whelan, F. J., McInerney, J. O., Ou, Y., & Domingo-Sananes, M. R. (2020). Horizontal Gene Transfer as a Source of Conflict and Cooperation in Prokaryotes. *Frontiers in Microbiology*, 11.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01569>

- Hassan, Y. I., Lahaye, L., Gong, M. M., Peng, J., Gong, J., Liu, S., Gay, C. G., & Yang, C. (2018). Innovative drugs, chemicals, and enzymes within the animal production chain. *Veterinary Research*, 49(1). <https://doi.org/10.1186/s13567-018-0559-1>
- Hölzel, C. S., Tetens, J. L., & Schwaiger, K. (2018). Unraveling the Role of Vegetables in Spreading Antimicrobial-Resistant Bacteria: A Need for Quantitative Risk Assessment. *Foodborne Pathogens and Disease*, 15(11), 671–688. <https://doi.org/10.1089/fpd.2018.2501>
- Imran, Md., Das, K. R., & Naik, M. M. (2019). Co-selection of multi-antibiotic resistance in bacterial pathogens in metal and microplastic contaminated environments: An emerging health threat. *Chemosphere*, 215, 846–857. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.10.114>
- Karamzadeh-Dehaghani, A., Towhidi, A., Zhandi, M., & Mojgani, N. (2020). Specific Chicken Egg Yolk Antibodies against Enterotoxigenic Escherichia coli K99 in Serum and Egg Yolk of Immunized Laying Hens. *Iranian Journal of Applied Animal Science*, 10(1), 155–161. http://ijas.iaurasht.ac.ir/article_671635.html
- Kim, J. S., Hosseindoust, A., Lee, S. H., Choi, Y. H., Kim, M. J., Lee, J. H., Kwon, I. K., & Chae, B. J. (2017). Bacteriophage cocktail and multi-strain probiotics in the feed for weanling pigs: effects on intestine morphology and targeted intestinal coliforms and Clostridium. *Animal*, 11(1), 45–53. <https://doi.org/10.1017/S1751731116001166>
- Lau, A. W. Y., Tan, L. T. H., Ab Mutalib, N. S., Wong, S. H., Letchumanan, V., & Lee, L. H. (2021). The chemistry of gut microbiome in health and diseases. *Progress In Microbes & Molecular Biology*, 4(1). <https://doi.org/10.36877/pmmb.a0000175>
- Letchumanan, V., Chan, K.-G., Pusparajah, P., Saokaew, S., Duangjai, A., Goh, B.-H., Ab Mutalib, N.-S., & Lee, L.-H. (2016). Insights into Bacteriophage Application in Controlling Vibrio Species. *Frontiers in Microbiology*, 7. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01114>

- Levy, S. B., FitzGerald, G. B., & Macone, A. B. (1976). Changes in Intestinal Flora of Farm Personnel after Introduction of a Tetracycline-Supplemented Feed on a Farm. *New England Journal of Medicine*, 295(11), 583–588. <https://doi.org/10.1056/NEJM197609092951103>
- Low, C. X., Tan, L. T. H., Mutalib, N. S. A., Pusparajah, P., Goh, B. H., Chan, K. G., Letchumanan, V., & Lee, L. H. (2021). Unveiling the impact of antibiotics and alternative methods for animal husbandry: A review. *Antibiotics*, 10(5). <https://doi.org/10.3390/antibiotics10050578>
- McEwen, S. A., & Collignon, P. J. (2018). Antimicrobial Resistance: a One Health Perspective. *Microbiology Spectrum*, 6(2). <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.arba-0009-2017>
- Merchant, L. E., Rempel, H., Forge, T., Kannangara, T., Bittman, S., Delaquis, P., Topp, E., Ziebell, K. A., & Diarra, M. S. (2012). Characterization of antibiotic-resistant and potentially pathogenic *Escherichia coli* from soil fertilized with litter of broiler chickens fed antimicrobial-supplemented diets. *Canadian Journal of Microbiology*, 58(9), 1084–1098. <https://doi.org/10.1139/w2012-082>
- Noll, M., Kleta, S., & al Dahouk, S. (2018). Antibiotic susceptibility of 259 *Listeria monocytogenes* strains isolated from food, food-processing plants and human samples in Germany. *Journal of Infection and Public Health*, 11(4), 572–577. <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2017.12.007>
- Oh, S., Lillehoj, H. S., Lee, Y., Bravo, D., & Lillehoj, E. P. (2019). Dietary Antibiotic Growth Promoters Down-Regulate Intestinal Inflammatory Cytokine Expression in Chickens Challenged With LPS or Co-infected With *Eimeria maxima* and *Clostridium perfringens*. *Frontiers in Veterinary Science*, 6. <https://doi.org/10.3389/fvets.2019.00420>
- O'Neill, J. (2016). *Tackling drug-resistant infections globally: final report and recommendations*. Review on Antimicrobial Resistance. https://amr-review.org/sites/default/files/160525_Final%20paper_with%20cover.pdf

- Pan, M., & Chu, L. M. (2017). Transfer of antibiotics from wastewater or animal manure to soil and edible crops. *Environmental Pollution*, 231, 829–836. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.08.051>
- Perry, J., Waglechner, N., & Wright, G. (2016). The Prehistory of Antibiotic Resistance. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 6(6), a025197. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a025197>
- Preena, P. G., Swaminathan, T. R., Kumar, V. J. R., & Singh, I. S. B. (2020). Antimicrobial resistance in aquaculture: a crisis for concern. *Biologia*, 75, 1497–1517. <https://doi.org/10.2478/s11756-020-00456-4/Published>
- Rasschaert, G., de Zutter, L., Herman, L., & Heyndrickx, M. (2020). Campylobacter contamination of broilers: the role of transport and slaughterhouse. *International Journal of Food Microbiology*, 322, 108564. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108564>
- Richards, P. J., Connerton, P. L., & Connerton, I. F. (2019). Phage Biocontrol of *Campylobacter jejuni* in Chickens Does Not Produce Collateral Effects on the Gut Microbiota. *Frontiers in Microbiology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00476>
- Rugna, G., Carra, E., Bergamini, F., Franzini, G., Faccini, S., Gattuso, A., Morganti, M., Baldi, D., Naldi, S., Serraino, A., Piva, S., Merialdi, G., & Giacometti, F. (2021). Distribution, virulence, genotypic characteristics and antibiotic resistance of *Listeria monocytogenes* isolated over one-year monitoring from two pig slaughterhouses and processing plants and their fresh hams. *International Journal of Food Microbiology*, 336, 108912. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108912>
- Santos, L., & Ramos, F. (2018). Antimicrobial resistance in aquaculture: Current knowledge and alternatives to tackle the problem. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 52(2), 135–143. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2018.03.010>

- Svara, F., & Rankin, D. J. (2011). The evolution of plasmid-carried antibiotic resistance. *BMC Evolutionary Biology*, 11(1), 130. <https://doi.org/10.1186/1471-2148-11-130>
- Tan, L. T.-H., Chan, K.-G., Lee, L.-H., & Goh, B.-H. (2016). Streptomyces Bacteria as Potential Probiotics in Aquaculture. *Frontiers in Microbiology*, 7. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00079>
- Tan, W.-S., Law, J. W.-F., Law, L. N.-S., Letchumanan, V., & Chan, K.-G. (2020). Insights into quorum sensing (QS): QS-regulated biofilm and inhibitors. *Progress In Microbes & Molecular Biology*, 3(1). <https://doi.org/10.36877/pmmb.a0000141>
- Tang, M., Zhou, Q., Zhang, X., Zhou, S., Zhang, J., Tang, X., Lu, J., & Gao, Y. (2020). Antibiotic Resistance Profiles and Molecular Mechanisms of Campylobacter From Chicken and Pig in China. *Frontiers in Microbiology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.592496>
- Tiseo, K., Huber, L., Gilbert, M., Robinson, T. P., & van Boeckel, T. P. (2020). Global Trends in Antimicrobial Use in Food Animals from 2017 to 2030. *Antibiotics*, 9(12), 918. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9120918>
- Van Boeckel, T. P., Brower, C., Gilbert, M., Grenfell, B. T., Levin, S. A., Robinson, T. P., Teillant, A., & Laxminarayan, R. (2015). Global trends in antimicrobial use in food animals. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 112(18), 5649–5654. <https://doi.org/10.1073/pnas.1503141112>
- Van Boeckel, T. P., Glennon, E. E., Chen, D., Gilbert, M., Robinson, T. P., Grenfell, B. T., Levin, S. A., Bonhoeffer, S., & Laxminarayan, R. (2017). Reducing antimicrobial use in food animals. *Science*, 357(6358), 1350–1352. <https://doi.org/10.1126/science.aao1495>
- Wang, S., Zeng, X., Yang, Q., & Qiao, S. (2016). Antimicrobial Peptides as Potential Alternatives to Antibiotics in Food Animal Industry. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(5), 603. <https://doi.org/10.3390/ijms17050603>

- Watts, J. E. M., Schreier, H. J., Lanska, L., & Hale, M. S. (2017). The rising tide of antimicrobial resistance in aquaculture: Sources, sinks and solutions. *Marine Drugs*, 15(6). <https://doi.org/10.3390/md15060158>
- WHO (World Health Organization). (2022). *Antibiotic resistance*. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antibiotic-resistance>
- Xie, W. Y., Shen, Q., & Zhao, F. J. (2018). Antibiotics and antibiotic resistance from animal manures to soil: a review. *European Journal of Soil Science*, 69(1), 181–195. <https://doi.org/10.1111/ejss.12494>
- Yassin, A. K., Gong, J., Kelly, P., Lu, G., Guardabassi, L., Wei, L., Han, X., Qiu, H., Price, S., Cheng, D., & Wang, C. (2017). Antimicrobial resistance in clinical *Escherichia coli* isolates from poultry and livestock, China. *PLOS ONE*, 12(9), e0185326. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0185326>
- Zalewska, M., Błażejewska, A., Czapko, A., & Popowska, M. (2021). Antibiotics and Antibiotic Resistance Genes in Animal Manure – Consequences of Its Application in Agriculture. *Frontiers in Microbiology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.610656>
- Zalewska, M., & Popowska, M. (2020). Antimicrobial/Antibiotic Resistance Genes Due to Manure and Agricultural Waste Applications. In M. Hashmi (Ed.), *Antibiotics and Antimicrobial Resistance Genes. Emerging Contaminants and Associated Treatment Technologies*. (pp. 139–161). Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-030-40422-2_6
- Zaman, S. bin, Hussain, M. A., Nye, R., Mehta, V., Mamun, K. T., & Hossain, N. (2017). A Review on Antibiotic Resistance: Alarm Bells are Ringing. *Cureus*, 9(6), e1403. <https://doi.org/10.7759/cureus.1403>