



Cuba Salud

IV Convención
Internacional de Salud
17-21 de octubre, 2022

Bacterias comensales vehículos para diseminación de genes de multiresistencia en animales destinados a la producción de alimentos en Cuba.

Ivette Espinosa Castaño¹
Michel Área Báez¹
Rosa Elena Hernández Fillor¹
Carelía Martha Marrero-Moreno²
Yanet López Dorta¹
Vincent Perrent³
Pastor Alfonso¹

¹Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA).

²Centro Provincial de Higiene, Epidemiología y Microbiología, Matanzas, Cuba

³Institute of Veterinary Bacteriology, Vetsuisse Faculty, University of Bern, Bern, Switzerland

Este trabajo integra estudios previos pilotos de vigilancia activa de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM) en exudados nasales de cerdos sanos y *Escherichia coli* productoras de betalactamasas de espectro extendido (*E.coli* BLEE) en exudados rectales de aves y cerdos. Las cepas se caracterizaron por epidemiología molecular, pruebas de susceptibilidad, Microarreglos de ADN y secuenciación de genes y genomas completos. Se alerta sobre la presencia de SARM en cerdos, previo al faenado en mataderos, las cepas en su mayoría pertenecieron a la ST8, similar al clon USA300 de importancia clínica en humanos. Se demostró la presencia de *E.coli* BLEE en aves y cerdos con alta diversidad genética, 23 ST en aves y 16 ST en cerdos. Los genes BLEE en *E.coli* de aves fueron *bla*_{CTX-M-1} (n = 27), *bla*_{CTX-M-15} (n = 4) y *bla*_{CTX-M-1} junto *bla*_{LAP-2} (n = 1), mientras en cerdos *bla*_{CTX-M-32} (n=17), *bla*_{CTX-M-15} (n=5), *bla*_{CTX-M-55} (n=4), además *bla*_{CMY-2} pAmpC. Se detectaron genes de resistencia a sulfonamidas, trimetoprim, tetraciclinas, aminoglycosidos, macrólidos y mutaciones en la región que determina resistencia a quinolonas. La diversidad de las cepas sugiere como vía fundamental de diseminación la transferencia horizontal. *E.coli* ST410 en aves y ST648 portan *bla*_{CTX-M-15}, similar a clones aislados de humanos a nivel mundial y en Cuba. El genoma circular completo de una cepa, verificó la localización plasmídica de *bla*_{CTX-M-32}. Los resultados advierten sobre la diseminación de SARM y *E. coli* BLEE desde la crianza animal en Cuba e indican la revisión del uso de antimicrobianos con un enfoque intersectorial.

Palabras claves: *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina, *Escherichia coli* productoras de betalactamasas de espectro extendido, cerdos, aves

I. INTRODUCCIÓN

Desde el año 2010 la Organización mundial de la salud (OMS), la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE) y la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) generaron una alianza tripartita a escala mundial para la lucha contra la resistencia antimicrobiana (RAM). Las tres organizaciones coinciden en la incorporación de consideraciones en cuanto al uso de antibióticos en salud humana y animal. Considerando que la base esencial para garantizar el uso prudente de los antibióticos es el conocimiento de los mecanismos de resistencia en las poblaciones de bacterias patógenas y comensales que pueden estar presente en la crianza animal (1).

La OMS reconoce patógenos dianas que son causa de morbilidad y letalidad en instalaciones hospitalarias, pero a su vez indica que la elección de microorganismos objetos de vigilancia activa de la RAM responde a las condiciones epidemiológicas y específicas de cada región. *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM) y enterobacterias resistentes a cefalosporinas de tercera generación (C3G), con predominio de *Escherichia coli* productoras de beta-lactamasas de espectro extendido (Ec-BLEE), son motivo de preocupación en pacientes hospitalizados, así como a nivel comunitario y existen estudios que señalan, además la presencia de estas especies en animales y el ambiente (2). Por tanto estas especies son motivo de vigilancia en planes de numerosos países (3)

SARM, es un patógeno Gram-positivo, se considera uno de los primeros representantes de bacterias resistentes a múltiples fármacos y continúa como una de las más problemáticas y costosas causas de infección bacteriana en humanos en todo el mundo. Las cepas de SARM según su epidemiología se distribuyen en tres categorías: asociadas a la asistencia hospitalaria (SARM-AH), asociadas a la comunidad (SARM-AC) y al ganado (SARM-AG) (4). Las cepas asignadas a cada una de estas clases difieren en sus características genéticas. SARM-AG se detecta en cerdos, terneros, caballos, aves de corral, en animales domésticos, incluso en humanos, fundamentalmente en personas en contacto con animales. Numerosas evidencias sugieren que la crianza de cerdos y su procesamiento en mataderos, puede representar un importante reservorio de cepas de SARM (5, 6).

En bacterias Gram-negativas, específicamente en Enterobacterias, uno de los mecanismos predominantes de la resistencia a antibióticos β -lactámicos es la producción de β -lactamasas. Las β -lactamasas, son enzimas que pueden ser codificadas en cromosomas o en plásmidos y presentan una amplia diversidad. Las β -lactamasas de espectro extendido (BLEE) son las que mayor riesgo ofrecen para la salud animal y humana, por ser ampliamente propagadas. Estas enzimas inactivan el anillo β -lactámico de cefalosporinas de amplio espectro y monobactámicos mediante hidrólisis. Las estrategias de laboratorio para discriminar entre la amplia familia de betalactamasas se basan en el empleo de métodos fenotípicos y moleculares, en la actualidad existen diversos ensayos, pero el incremento cada vez mayor de la familias de estas enzimas, complican la detección fenotípica de las mismas (7).

Escherichia coli comensal no patógena es un marcador establecido de contaminación fecal, también constituye un reservorio de genes de resistencia a los antimicrobianos (ARG). La plasticidad genómica de las cepas de *E. coli* patógenas y comensales contribuye a su desempeño como vehículo de ARG y justifica su utilización como “indicadora” en los planes de vigilancia integrada con el enfoque “Una

salud''. Los ARG en *E. coli* se consideran un reflejo de la presión selectiva debido al uso de antibióticos. Estos genes se localizan con frecuencia en elementos genéticos móviles, lo que contribuye a su transferencia a otras cepas. El análisis de la RAM en *E. coli* posibilita dilucidar su origen y vínculos epidemiológicos entre cepas derivadas de animales destinados a la producción de alimentos, el medio ambiente y la salud humana (8,9).

El objetivo de este trabajo es la integración de resultados obtenidos en el marco de estudios pilotos previos basados en la vigilancia activa de SARM y *E.coli* BLEE en animales aparentemente sanos destinados a la producción de alimentos.

II. MÉTODO

El estudio se realizó en el Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA) en colaboración con la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad de Berna, Suiza. Se realizaron análisis descriptivos observacionales de tipo transversal para estimar la frecuencia de presentación de: SARM en cerdos, en la categoría ceba terminal con estado de salud satisfactorio, previo al sacrificio durante tres días diferentes en los meses de Mayo a Julio del año 2015. El área de estudio fue el matadero perteneciente a la Empresa Cárnica situada en Nueva Paz, provincia Mayabeque. Un total de 285 exudados nasales se colectaron en tres días diferentes (10).

Los aislados de *E. coli* resistente a C3G se colectaron mediante el cultivo suplementado con ceftazidime de exudados clocales de gallinas en granjas de la región Occidental (434) y de exudados rectales de cerdos sanos en granjas de la región Occidental (215) en ambos casos de animales sanos en granjas (11, 12).

Las cepas de SARM se caracterizaron en cuanto al tipo de secuencia tipo (ST) por MLST, marcadores de virulencia Toxina Pantón Valentín (LPV), casete ACME, tipo de gene para la codificación de proteína A en superficie y genes de resistencia, así como el perfil de susceptibilidad microbiana frente a antibióticos de diferentes familias (10).

Un grupo de cepas de *E.coli* resistentes a C3G se seccionaron según las técnicas Eric PCR y el lugar de origen para su caracterización mediante los tipos de secuencias (ST), los genes de resistencia y el perfil de susceptibilidad. En el caso de los aislados de cerdos se utilizaron técnicas de secuenciación de genomas completos. Se determinaron los grupos de incompatibilidad plasmídica y además una cepa de la colección se secuenció completamente (11, 12, 13).

III. RESULTADOS

Se encontró una frecuencia de presentación de 7,7% de SARM en exudados nasales de cerdos. La estructura genética de los aislados, evidenció tres grupos clonales: grupo 1 (PFGE I) clon ST8-t024-IV, SCCmecIVa, *dru* dt9g [LPV+/ACME I+] (9/22) con genes para las enterotoxinas *sek* y *seq*, genes de

resistencia a β -lactámicos, macrólidos, aminoglicósidos y fluoroquinolonas similar al clon USA300. El segundo grupo USA300-variante Latinoamérica (VL), (PFGE II) ST8-t008-IV, SCCmecIVc, *dru* dt7j [LPV+/ACME-] (9/22), *sek-seq* solo presentó resistencia a β -lactámicos. La tercera agrupación (PFGE III) comprendió clones de la ST5, *spa* t010, SCCmecIVc, *dru* dt10a [LPV-, ACME-] (4/22), los cuales portan los genes para varias enterotoxinas y mostraron resistencia a β -lactámicos y aminoglicósidos. Este estudio reveló que cerdos en Cuba son colonizados por SARM, predominantemente asociados al clon pandémico USA300-ST8, el cual causa severas infecciones en piel, tejidos blandos y neumonía necrotizante, fatal en humanos (10). La frecuencia de aislamiento para 7,7%, para SARM se consideró baja al comparar con otros estudios similares en diferentes regiones a nivel mundial (14). Mientras en el caso de *E.coli* se observó valores moderados 14,3% en aves y superior 44.6 % para cerdos, estos porcentajes superan a los encontrados en países con altos estándares de bioseguridad y control de la RAM (15).

Los aislados de SARM, y de *Ec*-R-C3G para aves y cerdos fueron resistentes al menos a tres de los antibióticos probados correspondientes a diferentes familias. La resistencia a los betalactámicos es una característica común en los aislados debido a que se usaron medios selectivos suplementados con estos antibióticos para su recuperación a partir de las muestras, sin embargo, también se encontraron proporciones altas de resistencia a tetraciclina, sulfonamidas y fluoroquinolonas, fármacos que se encuentran aprobados para su uso en animales destinados al consumo humano a nivel mundial y en Cuba (16, 17).

Resultó interesante que SARM-AG ST398 cuyo principal reservorio son los cerdos según se describe a nivel mundial (14), no fuera detectado en las muestras tomadas. Aunque no se descarta su presencia en la crianza porcina en Cuba ya que este linaje ha sido aislado en todas las regiones del mundo con alta densidad de cerdos incluido Canadá, de donde se importó cerdos hacia Cuba en el año 2005. Para ello será necesario en el futuro extender la toma de muestras a otras regiones incluyendo no solo cerdos en los mataderos sino también en las granjas.

La presencia del clon epidémico USA300 de reconocida relevancia clínica en humanos aislado en cerdos procedentes de diferentes regiones y de muestras tomadas en distintos momentos, sugiere que no fue un evento fortuito y constituye un peligro para el personal que trabaja en contacto directo con los animales. Resulta preocupante, pues los cerdos constituyen una de las principales fuentes de proteínas, los cuales se crían en Cuba en granjas con distintos niveles de bioseguridad donde la crianza de traspatio es una de las predominan (10). Las principales vías de diseminación de SARM son a través de la vía aerógena y por contacto directo con animales, utensilios o personas colonizadas. En este sentido el papel del cerdo como reservorio de SARM en Cuba debe ser objetivo de futuros estudios con el enfoque intersectorial de una sola salud. Se precisan monitoreos adicionales para determinar si la presencia de SARM entre los cerdos fue transitoria o persistente, así como establecer las rutas de transmisión exactas en las granjas porcinas y examinar las medidas de bioseguridad para prevenir la propagación de SARM.

La propagación de SARM en la comunidad se considera una amenaza para la salud pública y la resistencia a múltiples fármacos es el principal obstáculo para su tratamiento (18). Resulta esencial la cooperación entre los profesionales de salud pública y las autoridades veterinarias para controlar la propagación de la infección por SARM. La concientización en la salud pública y veterinaria, las medidas

generales de higiene, buenas prácticas de uso de antimicrobianos, vigilancia sistemática de la resistencia y la bioseguridad son necesarias bajo el enfoque de una salud para un mejor control de la infección por SARM (19).

En cuanto a la caracterización de las cepas de *E. coli* productoras de BLEE se pudo observar una alta variabilidad genética con un alto porcentaje de multirresistencia. Las betalactamasas encontradas con mayor frecuencia en cepas de aves fueron las pertenecientes al grupo CTX-M-1, las cuales estuvieron distribuidas en un amplio grupo de ST, además se detectó la variante CTX-M-15, y la betalactamasa *bla*_{Lap-2} en un aislado (11). Del total de cepas derivadas de cerdos 26/27 (96,29%) contenían algún alelo del gen *bla*_{CTX-M}. El gen de esta familia más frecuente fue *bla*_{CTX-M-32} (n=17) seguido de *bla*_{CTX-M-15} (n = 5) y *bla*_{CTX-M-55} (n=4). Mientras que el gen *bla*_{CTX-M-32} se encontró en cepas pertenecientes a 12 ST diferentes, los genes *bla*_{CTX-M-15} y *bla*_{CTX-M-55} se encontraron en 2 ST cada uno (ST162, ST648) y (ST457, ST2599), respectivamente. Además, en todas las cepas que portaban el gen *bla*_{CTX-M-55} se detectó también el gen *bla*_{TEM-1B} (12).

La presencia de clones de alto riesgo y de carácter epidémico en animales requiere especial atención. Las bacterias con estas características presentan altos perfiles de resistencia para los cuales se ha descrito la transmisión horizontal como la vía más exitosa para la diseminación de genes de resistencia. Por otra parte estas bacterias poseen la capacidad de colonizar diferentes especies de animales con el atributo adicional de poder causar importantes infecciones en humanos (20). La presencia de aislados con características genéticas compatibles con cepas que comúnmente afectan a los humanos como es el caso de los clones de SARM USA300, USA-300-LV así como los aislados portadores de la betalactamasa CTX-M-15 filogruppo A/ST410, y CTX-M-32 y CTX-M-55 en animales sugiere un origen humano, lo cual debe ser estudiado con más profundidad así como el papel de estas especies de animales como reservorio de clones multirresistentes con alto potencial zoonótico (10, 11, 12).

Estos hallazgos demuestran en animales destinados al consumo humano, la alta diversidad genética de bacterias multirresistentes con reconocido potencial zoonótico, que constituyen clones epidémicos y de alto riesgo, lo cual implica un peligro para el personal que trabaja en contacto directo con los animales y la salud pública en general. Las bacterias resistentes pueden ingresar al cuerpo humano a través de alimentos de origen animal (carne, leche y huevos), por contacto directo con animales, sus alimentos y estiércol y a través del ambiente contaminado con desechos de humanos y animales (10, 11, 12).

Recientemente, Quiñones y col. (2020) (21) informaron la presencia de los genes *bla*_{CTX-M-32}, *bla*_{CTX-M-15}, *bla*_{CTX-M-55} y *bla*_{CMY-2} en cepas de *E. coli* resistentes a C3G recuperadas de infecciones extraintestinales en humanos en Cuba, la variante *bla*_{CTX-M-15} se encontró en el mayor porcentaje de los aislados. Interesantemente la variante *bla*_{CTX-M-32}, se detectó en un paciente en Matanzas, también mostró predominio en las muestras de cerdos colectadas de esta provincia. Algunos autores han sugerido que CTX-M-55 y CTX-M-32 proceden de fuentes animales, incluidos ganado bovino y porcino (22). Los aislados de ST410 recuperados en aves y de ST 648 y 162 de cerdos contienen CTX-M-15, el tipo de BLEE predominante en *E. coli* humana a nivel mundial (23).

En las cepas analizadas se observaron altos niveles de resistencia a los antimicrobianos de uso común: tetraciclina, penicilinas, sulfonamidas, fluoroquinolonas, aminoglucósidos, macrólidos y se encontraron genes asociados a la resistencia a cada uno de estos fármacos, sin embargo no se encontró resistencia en el caso de los aislados de *E. coli* a antibióticos considerados como de importancia crítica en humanos o los llamados últimas alternativas terapéuticas como colistina, carbapenémicos y tigeciclina (11 y 12). Es reconocido el papel de la propagación clonal en la diseminación de las cepas multirresistentes y sus genes (24). Factores como la co-selección o co-resistencia a otros compuestos no relacionados y la transferencia horizontal de genes de resistencia, son vía que propician la diseminación considerando que humanos y animales comparten entornos comunes.

Los plásmidos conjugativos son uno de los mecanismos más importantes para la aparición y propagación de *bla*CTX-M. Estos plásmidos facilitan la transferencia horizontal a otros aislamientos e incluso entre especies (21). En este estudio se determinaron los grupos de incompatibilidad revelando en las cepas de *E.coli* de aves y cerdos la presencia de FII, FIA, FIB, H12, H11. Además en una cepa de origen porcino al utilizar secuenciación de genomas completos fue posible comprobar que el gen CTX-M-32 se ubica en un plásmido (13). En la actualidad la tendencia en las investigaciones se orienta al uso de las técnicas de secuenciación de genomas completos para dilucidar el contexto genético que rodea a los genes CTX-M y poder comprender las vías para su transferencia horizontal.

Uno de las concordancias más detectadas entre clones de alto riesgo y clones epidémicos establecidos en los últimos años tanto en bacterias Gram negativas como Gram positivas coincide en que la expansión de estos grupos multirresistentes se propició tras la introducción de las fluoroquinolonas en la década de los 1980. Las fluoroquinolonas son una de las clases de antibióticos con mayor estabilidad tras su eliminación al medio ambiente (25). Los mecanismos de resistencia a estos antibióticos son variados siendo las mutaciones en las topoisomerasas los de mayor relevancia clínica (26). La presencia de mutaciones específicas en la región determinante de la resistencia a las quinolonas (QRDR) confiere ventajas evolutivas sobre las variantes sensibles incluso en ausencia de estos antibióticos en el medio. Las mutaciones en las regiones QRDR pueden resultar una ventaja evolutiva al facilitar la velocidad de replicación y la adquisición de nuevos genes de resistencia. En ambas especies bacterianas estudiadas la presencia de altos niveles de resistencia a las fluoroquinolonas atribuido a la presencia de mutaciones puntuales en la región QRDR es un punto común entre los clones de mayor relevancia clínica encontrados: ST410, ST167 y USA300. Estos resultados coinciden con los obtenidos por diferentes autores, quienes además resaltan que el uso extensivo de las fluoroquinolonas juega un papel crucial en la evolución y expansión de bacterias patógenas (26). Señalando entonces precaución en el uso de estos compuestos para el control de infecciones en la salud animal.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos aunque derivados de estudios puntuales son una contribución en Cuba a la vigilancia integrada de la resistencia antimicrobiana en la crianza animal, con el soporte de la epidemiología molecular. Señalan la presencia de dos especies multiresistentes de interés, que constituyen dianas de la vigilancia de la resistencia a los antibióticos a nivel mundial por su potencial para su transmisión a la cadena alimentaria y al ambiente. Se notifican por primera vez en Cuba la presencia de SARM aso-

ciado al cerdo, se informan los subtipos CTX-M que circulan en *E.coli* BLEE en animales de Cuba (*bla*CTX-M-1, *bla*CTX-M-15 en *E.coli* de aves y *bla*CTX-M-32, *bla*CTX-M-15 y *bla*CTX-M-55 en cepas de cerdos), estos subtipos se reconocen a nivel mundial con una buena capacidad de diseminación, debido a reordenamientos genéticos exitosos. La detección de variantes CTX-M en cepas de diferentes tipos de secuencias y distribuidas en granjas y mataderos señala a la transferencia horizontal como la principal vía para la extensa diseminación de las cepas *E.coli* productoras de BLEE tipo CTX-M. Lo cual indica la necesidad de fortalecer las medidas de higiene y bioseguridad en estas instalaciones, la colecta de datos sobre consumo de antibióticos, así como el uso adecuado de los mismos. Además, se hace imprescindible concientizar al personal de los sectores involucrados y también a la comunidad que la resistencia a los antibióticos no es un problema del futuro.

REFERENCIAS

1. OMS. Proyecto de plan de acción mundial sobre la resistencia a los antimicrobianos Resistencia a los antimicrobianos Organización mundial de la salud 68 Asamblea mundial de la Salud A 68/20.2015.
2. Tacconelli, E., Carrara, E., Savoldi, A., Harbarth, S., Mendelson, M., Monnet, D., Ouellette, M.J.L.I.D., 2018. Descubrimiento, investigación y desarrollo de nuevos antibióticos: la lista de prioridades de la oms de bacterias resistentes a los antibióticos y tuberculosis. 18, 318-327.
3. Diallo, O., Baron, S., Abat, C., Colson, P., Chaudet, H., Rolain, J.-M., 2020. Antibiotic resistance surveillance systems: A review. Journal of Global Antimicrobial Resistance 23, 430-438.
4. Pal, M., Kerorsa, G.B., Marami, L.M., Kandi, V.J.A.J.P.H.R., 2020. Epidemiology, pathogenicity, animal infections, antibiotic resistance, public health significance, and economic impact of staphylococcus aureus: a comprehensive review. 8, 14-21.
5. Aires-de-Sousa, M., 2017. Methicillin-resistant Staphylococcus aureus among animals: current overview. Clin Microbiol Infect 23, 373-380.
6. Founou, L.L., Founou, R.C., Essack, S.Y., 2021. Antimicrobial resistance in the farm-to-plate continuum: more than a food safety issue. Future science OA 7, FSO692-FSO692.
7. Ramos, S., Silva, V., Dapkevicius, M.d.L.E., Caniça, M., Tejedor-Junco, M.T., Igrejas, G., Poeta, P., 2020. Escherichia coli as commensal and pathogenic bacteria among food-producing animals: Health implications of extended spectrum β -lactamase (ESBL) production. Animals 10, 2239.
8. Espinosa I., Báez, M., Rosa Elena Hernández Fillor, Yanet López Dorta., Evelyn Lobo-Rivero., Belkis Gonzales Corona. Resistencia antimicrobiana en bacterias de origen: desafíos para su contención desde el laboratorio. 2019. Rev_Salud Anim. Vol41 no.3 2224-4700.
9. Saliu, E.M., Vahjen, W., Zentek, J., 2017. Types and prevalence of extended-spectrum beta-lactamase producing Enterobacteriaceae in poultry. Anim Health Res Rev 18, 46-57.
10. M, A, I, V. 2017. MRSA USA300, USA300-LV and st5-iv in pigs, Cuba. Int J Antimicrob Agents.;49(2):259-261
11. Báez, M.; Espinosa, I.; Collaud, A.; Miranda, I.; Montano.; Feria, A.L.; Hernández-Fillor, R.E.; Obregón, D.; Alfonso, P.; Perreten, 2021. Genetic Features of Extended-Spectrum -Lactamase-Producing Escherichia coli from Poultry in Mayabeque Province, Cuba. V. Antibiotics, 10,107.

12. Rosa Elena Hernández-Fillor, Michael Brilhante, Carelia Martha Marrero-Moreno, Michel Báez-Arias, Ivette Espinosa and Vincent Perreten. 2021. *Characterization of 3rd generation cephalosporin-resistant Escherichia coli isolated from pigs in Cuba using Next Generation Sequencing* Microbial Drug Resistance, 27.
13. Hernández-Fillor RE, Brilhante M, Espinosa I, Perreten V. 2020. Complete circular genome sequence of a multidrug-resistant *Escherichia coli* strain from Cuba obtained with Nanopore and Illumina hybrid assembly.. *Microbiol Resour Announc* 8:e01269-19.
14. Pirolo, M., Sieber, R.N., Moodley, A., Visaggio, D., Artuso, I., Gioffrè, A., Casalnuovo, F., Spatari, G., Guardabassi, L., Stegger, M.J.A., microbiology, e., 2020. Local and transboundary transmissions of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* sequence type 398 through pig trading. 86, e00430-00420.
15. Saliu, E.M., Vahjen, W., Zentek, J., 2017. Types and prevalence of extended-spectrum beta-lactamase producing Enterobacteriaceae in poultry. *Anim Health Res Rev* 18, 46-57.
16. Tiseo, K., Huber, L., Gilbert, M., Robinson, T.P., Van Boeckel, T.P.J.A., 2020. Global trends in antimicrobial use in food animals from 2017 to 2030. 9, 918.
17. IMV, 2018. Listado Oficial de Productos Veterinarios Registrados. In: Grupo De Registro De Productos De Uso Veterinario, L.H. (Ed.) Instituto de Medicina Veterinaria, , pp.
18. Leiva Peláez, O., Stojanov, M., Zayas Tamayo, A.M., Barreras Garcia, G., Gonzalez Aleman, M., Martinez Ceballos, L., Munoz del Campo, J.L., Bello Rodriguez, O., Gonzalez Mesa, L., Blanc, D.S., 2015. Molecular epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from 4 Cuban hospitals. *Diagn Microbiol Infect Dis* 81, 1-3.
19. Collignon, P.J., McEwen, S.A., 2019. One Health-Its Importance in Helping to Better Control Antimicrobial Resistance. *Tropical medicine and infectious disease* 4, 22.
20. Feng, Y., Liu, L., Lin, J., Ma, K., Long, H., Wei, L., Xie, Y., McNally, A., Zong, Z., 2019. Key evolutionary events in the emergence of a globally disseminated, carbapenem resistant clone in the *Escherichia coli* ST410 lineage. *Communications biology* 2, 322-322.
21. Quiñones, D., M. S. Aung, Y. Carmona, M. K. González, N. Pereda, M. Hidalgo, M. Rivero, A. Zayas, R. Del Campo, N. Urushibara and N. Kobayashi .2020. "High Prevalence of CTX-M Type Extended-Spectrum Beta-Lactamase Genes and Detection of NDM-1 Carbapenemase Gene in Extraintestinal Pathogenic *Escherichia coli* in Cuba." *Pathogens* (Basel, Switzerland) 9(1): 65.
22. European Food Safety Authority (EFSA) y European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). 2019. The European Union summary report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2017. *EFSA J*, 17 (2):5598, 278 pp.
23. Bevan, E. R., A. M. Jones and P. M. Hawkey 2017. "Global epidemiology of CTX-M beta-lactamases: temporal and geographical shifts in genotype." *J Antimicrob Chemother* 72(8): 2145-2155.
24. Baker, S., Thomson, N., Weill, F.-X., Holt, K.E., 2018. Genomic insights into the emergence and spread of antimicrobial-resistant bacterial pathogens. *Science* 360, 733-738.
25. Fuzi, M., Rodriguez Baño, J., Toth, A.J.F.i.m., 2020. Global evolution of pathogenic bacteria with extensive use of fluoroquinolone agents. 11, 271.
26. Roer, L., Overballe-Petersen, S., Hansen, F., Schonning, K., 2018. *Escherichia coli* Sequence Type 410 Is Causing New International High-Risk Clones. 3.