



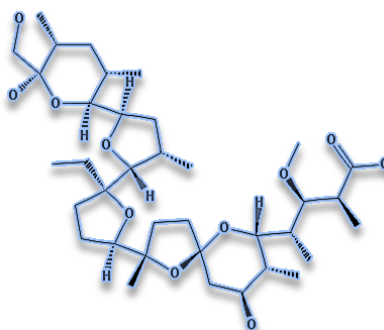
**RSA-CONICET**  
Red de Seguridad Alimentaria del CONICET

**Red de Seguridad Alimentaria**

**Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas**

**GRUPO *AD HOC* RAM-MONENSINA**

# **RESISTENCIA A LA MONENSINA**



**INFORME FINAL**  
**4 de julio de 2018**

## INFORME FINAL

### RESISTENCIA A LA MONENSINA

#### A) DESCRIPCIÓN DE LA SOLICITUD

##### a) Solicitante

Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA). Av. Paseo Colón 367, C1063ACD C.A.B.A. Contacto Técnico: Alejandro Gabriel Fernández. [dhipovp@senasa.gob.ar](mailto:dhipovp@senasa.gob.ar)

##### b) Solicitud realizada

En diciembre de 2015 el SENASA puso en vigencia la Resolución 594/2015 sobre alimentos para animales. Como consecuencia de la problemática de la resistencia antimicrobiana (RAM) y la Estrategia Nacional que en conjunto se desarrolla desde los Ministerios de Agroindustria y de Salud, la resolución estableció fechas pautadas para la eliminación de antibióticos, coccidiostatos y antiparasitarios como sustancias agregadas a los alimentos para animales para su posterior venta como “alimentos medicados”.

Actualmente se pretende revisar la norma en relación a la RAM y las sustancias alcanzadas por la futura prohibición, a la luz de nuevos documentos internacionales de FAO y CODEX y a los procedimientos normativos de los Organismo Gubernamentales de Estados Unidos, surgidos luego de la vigencia de la Resolución SENASA N°594/2015.

Entre los criterios surgidos en estos documentos aparecen la clasificación por grupos de sustancias según su criticidad y la identificación de grupos de sustancias que no son utilizadas en medicina humana y sobre las cuales no se observa impacto crítico en cuanto a RAM, entre las que se encontraría la monensina.

Asimismo, existe el concepto no consensuado respecto a que la utilización de medicamentos como “promotores de crecimiento” generan, al ser usados en tan bajas dosis, resistencia antimicrobiana, por lo que grupos de países (UE) o países de manera individual (Chile) prohibieron ese uso, en tanto que otros (Brasil) mantienen las autorizaciones como promotores de crecimiento.

Consulta: se pretende rever las fechas establecidas en la Resolución SENASA 594/2015 y establecer una clasificación de sustancias por criticidad en relación a RAM. Del mismo modo, se pretende determinar si corresponde mantener la restricción sobre ionóforos y, en particular, sobre la monensina, considerando que no hay información que establezca claramente que la monensina genere RAM, que los ionóforos no son de uso en medicina humana y que no son antibacterianos.

Se espera tomar estas decisiones sobre la base de evaluación de riesgo en cuanto al impacto del uso de monensina como promotor de crecimiento en animales de producción y su relación con la RAM.

### **B) CONFORMACIÓN DEL GRUPO AD HOC RAM-MONENSINA**

Coordinador grupo *ad hoc*:

- NICOLÁS JAVIER LITTERIO, Dr. M.Sc. Vet. Prof. Titular de Farmacología y Toxicología y de Epidemiología y Salud Pública. Fac. Cs. Agropecuarias, Universidad Católica de Córdoba (UCC). Miembro Investigador IRNASUS, UCC – CONICET.

Integrantes grupo *ad hoc*:

- DANIELA CENTRON, Prof. Adjunta Regular de Microbiología, Parasitología e Inmunología - Fac. de Medicina, UBA. Inv. Principal de CONICET (IMPaM). Bióloga, UBA; Doctora de la UBA, Área Microbiología.
- JOSÉ DI CONZA, Profesor Adjunto de Microbiología - Fac. de Farmacia y Bioquímica, UBA. Investigador Adjunto de CONICET. Bioquímico, UNL; Doctor de la UBA, Área Microbiología.
- LAUREANO SEBASTIÁN FRIZZO, Profesor Adjunto de Bromatología - Fac. de Ciencias Veterinarias UNL. Investigador Adjunto de CONICET. Veterinario. Doctor en Cs. Biológicas.
- GABRIEL OSVALDO GUTKIND, Prof. Titular de Microbiología. FFyB - UBA. Investigador Principal (CONICET). Especialidad: Microbiología; mecanismo de acción y resistencia a drogas antimicrobianas.

- SANDRA KARINA MEDICI, Prof. Adjunto Fac. de Cs Agrarias UNMdP. Inv. Adjunta CONICET UNMdP- Centro Biotec Fares Taie. Bióloga, Doctora en Cs Biológicas, UNMdP.
- NORA MESTORINO, Dr.Sc.Vet., PhD, Prof. Asoc. de Farmacología Especial y Toxicología, Directora LEFyT, FCV, UNLP. Prof. Titular de Farmacología y Toxicología, FCV, UCCuyo.
- Ma. GABRIELA PARAJE, Prof. Titular, Fac. Cs. Exactas, Físicas y Naturales, UNC. Inv. Indep IMBIV-CONICET. Farmacéutica, Bioquímica, Doctor Cs. Químicas, Área Microbiología.
- MARÍA PAULA QUIROGA, Jefe de Trabajos Prácticos, Fac. de Medicina UBA. Inv. Asistente de CONICET (IMPam). Lic. en Genética, UNaM; Doctora de la UBA, Área Microbiología.
- MARÍA CECILIA RODRÍGUEZ, Investigador Asistente de CONICET-Centro de Referencia para Lactobacilos (CERELA). Bioquímica; Doctora en Ciencias Biológicas, UNT. Área Microbiología.
- MARCELO SIGNORINI: Investigador Independiente del CONICET - EEA Rafaela del INTA. Profesor Adjunto en el Departamento de Salud Pública, Fac. Cs. Veterinarias. Universidad Nacional del Litoral.
- LORENA PAOLA SOTO, Jefe de Trabajos Prácticos – Fac. Cs. Veterinarias, UNL. Investigadora Adjunta de CONICET (ICIVET-Litoral). Lic. en Biotecnología, Doctora en Ciencias Biológicas (UNL).
- MÓNICA SPARO, Profesora Adjunta, Cátedra de Microbiología y Parasitología (CUDEMyP) - Facultad de Ciencias Médicas, UNLP. Bioquímica; Dra. de la UBA, Área Microbiología.

**Dirección Red de Seguridad Alimentaria:** Dr. Carlos J. Van Gelderen.

**Coordinación Red de Seguridad Alimentaria:** M. V. Javier Pardo.

## ÍNDICE

A) DESCRIPCIÓN DE LA SOLICITUD .....	1
B) CONFORMACIÓN DEL GRUPO AD HOC RAM-MONENSINA .....	2
C) RESUMEN EJECUTIVO .....	5
D) ACTIVIDADES DESARROLLADAS .....	6
E) RESULTADOS.....	7
1) EMPLEO DE LA MONENSINA EN VETERINARIA.....	7
a) Generalidades .....	7
b) Mecanismo de acción .....	7
c) Usos en avicultura .....	8
d) Usos en bovinos .....	8
e) Farmacocinética.....	9
f) Residuos.....	10
g) Impacto sobre el ambiente .....	11
h) Toxicidad en animales .....	11
2) INFORMACIÓN DE LA RESISTENCIA.....	11
a) Resistencia en coccidios.....	11
b) Resistencia en bacterias.....	12
c) Excreción de patógenos zoonóticos .....	14
3) ANÁLISIS DE LA EXPOSICIÓN DE LA RESISTENCIA EN PERSONAS .....	15
a) Consumo de alimentos de origen animal.....	15
b) Usos de la monensina en medicina humana.....	15
4) ANÁLISIS DE LAS CONSECUENCIAS.....	16
F) CONCLUSIONES FINALES.....	17
a) Limitaciones del informe .....	17
b) Conclusiones.....	17
c) Recomendaciones.....	17
G) REFERENCIAS.....	19

### C) RESUMEN EJECUTIVO

El trabajo se realizó a pedido del SENASA quien solicitó que se analice del riesgo de resistencia antimicrobiana generada por la monensina, con el objeto de reevaluar lo dictaminado en la Resolución 594/2015. En la misma, se contempla la eliminación de antibióticos, coccidiostatos y antiparasitarios como sustancias agregadas a los alimentos para animales, para su posterior venta como “alimentos medicados”.

El análisis realizado se fundamentó sobre las evidencias científicas disponibles, tanto en lo referente a la emergencia de resistencia en bacterias de interés en salud pública y animal, como en coccidios que afectan a los animales de consumo.

Considerando que la monensina se elimina en forma inactiva casi en su totalidad desde los animales medicados, que los residuos que quedan en los tejidos comestibles son escasos o nulos, que posee un modo de acción muy diferente de los fármacos antimicrobianos de uso convencional (betalactámicos, aminoglucósidos, etc.), que el tipo de resistencia documentada es de tipo adaptativa y es transitoria, y no tiene uso terapéutico en personas, las consecuencias potenciales de la resistencia en bacterias de interés para la salud pública, serían muy poco probables. Por otra parte, se debe contemplar que el uso intensivo de la monensina como coccidiostato en animales, puede disminuir la sensibilidad del género *Eimeria* a este ionóforo.

Sin embargo, dado que la utilización de antimicrobianos puede seleccionar por mecanismos no previsibles la aparición de resistencias, se recomienda revisar la información científica disponible en forma periódica, con el objeto de obtener nueva evidencia que amerite la modificación de las conclusiones de este documento, se considere la inclusión de la monensina dentro de los programas de vigilancia epidemiológicos de resistencia antimicrobiana, se vigile la emergencia de resistencia en coccidios de interés veterinario y se controle la emergencia de resistencia cruzada a otras familias de antimicrobianos por el uso habitual de ionóforos en animales destinados a consumo.

### D) ACTIVIDADES DESARROLLADAS

El grupo *ad hoc* se ha reunido quincenalmente entre los meses de marzo y junio del corriente, mediante la modalidad de videoconferencia. Se realizó una valoración cualitativa de la probabilidad de que las bacterias de interés en salud pública y animal, adquirieran resistencia a la monensina. Asimismo, se consideró el riesgo de resistencia en bacterias y coccidios de interés veterinario. Para ello, se tuvieron en cuenta los aspectos inherentes al empleo de la monensina en veterinaria, a la resistencia bacteriana y a las posibles consecuencias de la exposición de la población humana. Toda la información, analizada y discutida, fue obtenida de fuentes científicas bibliográficas que se mencionan en el correspondiente apartado de este documento.

## E) RESULTADOS

### 1) EMPLEO DE LA MONENSINA EN VETERINARIA

#### a) Generalidades

La monensina pertenece al grupo de los fármacos ionóforos poliéteres carboxílicos, junto a lasalocida, maduramicina, narsarina, semduramicina y salinomicina. Es un compuesto natural producido por *Streptomyces cinnamonensis*. La sal de sodio es una mezcla de cuatro análogos: A, B, C y D, que se producen durante la fermentación, siendo la monensina A, el componente principal (98%). Dependiendo del método de purificación, la monensina puede existir en formas micelares, cristalinas o recristalizadas.

Posee actividad antiprotozoárica, fundamentalmente contra *Eimeria* spp. y antibacteriana frente a Gram positivas abarcando a los géneros *Micrococcus*, *Bacillus*, *Staphylococcus* y *Streptococcus* (Callaway & Russell, 1999; Marshall & Levy, 2011; Koluman & Dikici, 2013; Łowicki & Huczynski, 2013; Thomas *et al.*, 2017). Por otra parte, es escasa la actividad frente a Gram negativas, probablemente debido a la compleja conformación de la pared bacteriana que impide el paso de moléculas de gran tamaño (Łowicki & Huczynski, 2013).

Se la administra en la ración para el control de la coccidiosis en aves de corral y en rumiantes. En estos últimos, además está indicada en casos de cetosis y timpanismo; así también, como promotor de crecimiento en bovinos y ovinos (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives [JECFA], 2008).

La Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE, 2015) incluye a la monensina dentro de la lista de agentes antimicrobianos veterinarios de importancia elevada para los bovinos, caprinos y abejas, mientras que para el caso de las aves de corral es clasificada como de importancia crítica. El fundamento de la clasificación es debido a que la monensina (junto a otros ionóforos) es considerada esencial para la salud del animal, pues existen pocas o ninguna alternativa disponible para el control de la coccidiosis intestinal parasitaria (*Eimeria* spp.).

#### b) Mecanismo de acción

El modo de acción de la monensina es un fenómeno biofísico más que un evento bioquímico específico (Lowe *et al.*, 1991). Los antimicrobianos utilizados en medicina humana y animal actúan inicialmente sobre sitios específicos, que pueden desencadenar cascadas de efectos



posteriores. Los betalactámicos y los glucopéptidos inhiben la síntesis de la pared celular bacteriana; los aminoglucósidos, las tetraciclinas, los macrólidos y las lincosamidas alteran la síntesis de proteínas; las quinolonas inhiben la replicación bacteriana del ADN y las sulfonamidas inhiben el metabolismo del ácido fólico. En cada caso, la efectividad del antimicrobiano depende de la interacción específica con sus blancos moleculares. Este hecho diferencia a la monensina de prácticamente todos los demás agentes antimicrobianos.

En cambio, el mecanismo de acción de la monensina consiste en la interferencia del flujo de iones que mantiene el potencial de membrana (o fuerza protón-motriz) a través de las membranas celulares de las bacterias (o de los protozoos), lo que provoca la reasignación de los recursos de energía para mantener el pH celular y el equilibrio iónico, en lugar del crecimiento y la reproducción (JECFA, 2008).

A su vez, los efectos en la eficiencia de la conversión alimenticia pueden surgir de la capacidad de la monensina de cambiar la fermentación ruminal hacia la ruta de propionato energéticamente más eficiente, reducir la producción de metano y aumentar la retención de nitrógeno mediante la desaminación de las proteínas de la dieta y la excreción de amoníaco urinario (JECFA, 2008).

### **c) Usos en avicultura**

La monensina se usa en pollos para carne y en pollas de reposición de gallinas ponedoras, con el fin de prevenir la coccidiosis causada por *Eimeria necatrix*, *E. tenella*, *E. acervulina*, *E. brunetti*, *E. mivati* y *E. maxima*. En gallinas ponedoras y pollas de reposición de más de 16 semanas de edad no se la emplea, debido a que ya han adquirido la inmunidad necesaria para controlar la parasitosis. Se administra en la ración a razón de 100 a 125 ppm en pollos, de 60 a 100 ppm en pavos y de 70 a 75 ppm en codornices de 1 a 10 días de edad (Davis & Gookin, 2018).

### **d) Usos en bovinos**

Además del uso coccidiostático, la monensina se emplea fundamentalmente para favorecer la promoción del crecimiento en el ganado de carne, la producción de leche, la prevención del timpanismo, y el control de la cetosis durante el periparto en vacas lecheras.

La acción de la monensina sobre las bacterias ruminales y los cambios en la función ruminal se traducen en mejoras en la eficiencia de utilización de alimentos que se ven reflejados en una mayor producción de carne y leche (Duffield *et al.*, 2012a; Duffield *et al.*, 2012b). La microbiota ruminal es afectada desplazándose el equilibrio hacia la población Gram negativa. Este cambio repercute en la mayor producción de ácido propiónico, a partir de lactato, en desmedro del ácido acético y butírico. A su vez, se disminuye la proteólisis y desaminación (lo cual se traduce en menor concentración de amoníaco en el rumen), hay un mayor flujo de proteína vegetal hacia el duodeno, se reduce la producción de 3-metilindol, de metano e hidrógeno y, levemente, el consumo de materia seca (Bergen & Bates, 1984).

Otros efectos benéficos que se observan por el uso de la monensina incluyen la disminución del riesgo de edema y enfisema pulmonar, la reducción de las concentraciones séricas de potasio, magnesio y fósforo y la elevación de las concentraciones séricas de glucosa y ácidos grasos volátiles (Dowling, 2013).

Además de la tradicional presentación comercial de monensina para su administración con el alimento, existen bolos intrarruminales recomendados para la prevención de la cetosis en vacas lecheras (European Medicines Agency [EMA], 2013).

### **e) Farmacocinética**

Los ionóforos poseen características farmacocinéticas diferenciales en función de la especie animal tratada. Mientras que en los rumiantes aproximadamente la mitad de la dosis de monensina administrada por vía oral alcanza la circulación general, en los animales monogástricos la absorción es mayor, llegando casi la totalidad de la dosis al torrente sanguíneo, lo cual implica mayor riesgo de toxicidad. El fármaco absorbido es metabolizado rápida y ampliamente en el hígado, sufriendo o-desmetilación e hidroxilación. Más de 50 metabolitos de la monensina se han logrado identificar, donde sólo el metabolito M1 ha demostrado actividad farmacológica, aunque unas 20 veces menor que el fármaco madre (Álvarez *et al.*, 2002). Este intenso metabolismo, también se ha documentado en personas, donde la monensina es biotransformada en un 93 a 99 % en 60 minutos (JECFA, 2008). El 99 % de los metabolitos inactivos de la monensina, son excretados a través de la bilis y eliminados por vía fecal, mientras que el 1% restante se elimina por orina.

### f) Residuos

En la Comisión del Codex Alimentarius (2017) se establecieron los siguientes límites máximos de residuos (LMR) para las siguientes especies: bovinos de carne y de leche (10 µg/kg en músculo y riñón, 100 µg/kg en hígado y grasa; 2 µg/kg en leche); ovinos y caprinos (10 µg/kg en músculo y riñón; 20 µg/kg en hígado y 100 µg/kg en grasa); pollo, gallina, pavo y codorniz (10 µg/kg en músculo, hígado y riñón; y 100 µg/kg en grasa). Se re-calculó la ingesta diaria máxima teórica surgida de la 70ª reunión del JECFA, lo que dio como resultado un valor de 481 µg/persona, representando el 80% del límite superior de la IDA (75ª JECFA, 2011).

En tanto que el Comité de Medicamentos de Uso Veterinario de la Comisión Europea (Reglamento N° 37/2010 modificado por el Reglamento N° 59/2013) informa los siguientes valores de LMR en bovinos: 2 µg/kg en músculo, 10 µg/kg en grasa y riñón, 50 µg/kg en hígado y 2 µg/kg en leche. Se estableció una Ingesta Diaria Admisible (IDA) farmacológica de 3 µg/kg de peso corporal, es decir, 180 µg/persona.

En un estudio realizado recientemente en Brasil por Neumann *et al.* (2018), no se detectaron residuos de monensina en tejidos comestibles de bovinos tratados con monensina sódica a razón de 1,25 g/animal/día, independientemente del período de espera. Las concentraciones de monensina que obtuvieron los autores en los diferentes tejidos animales (músculo, grasa, hígado y riñón) después de 16, 32 y 56 h de supresión del producto antes del sacrificio de los animales, fueron menores a los LMR establecidos por el Codex Alimentarius y por la Normativa N° 10 de Brasil (2008). Resultados similares fueron publicados previamente por otros autores en Chile (Jerez *et al.*, 2014) al evaluar el perfil de depleción residual de monensina en leche luego de suministrar alimento suplementado con monensina a razón de 300 mg/vaca/día durante 20 días a vacas Holstein en producción. En ninguna de las muestras de leche analizadas (desde el día 0 hasta la finalización del ensayo a los 21 días) pudieron detectar monensina sódica. Es importante aclarar que, en el estudio mencionado, el límite de detección (LOD) fue 5 ng/mL, es decir que la técnica utilizada cumplía con la normativa en cuanto a la presencia de residuos de Canadá (LMR= 10 ppb), Japón (LMR 10 ppb) y USA (no reportados), pero no con la normativa de europea (LMR= 2 ppb) (EMA, 2013).

### **g) Impacto sobre el ambiente**

La influencia de la monensina sobre los microorganismos ruminales productores de metano e hidrógeno causa una disminución importante en la producción de estos gases en el rumen. Considerando la cantidad de rumiantes en producción distribuidos a nivel global, es notorio el aporte que pueden efectuar los ionóforos sobre el ambiente reduciendo la cantidad de gases que pueden tener efectos perjudiciales sobre la biosfera (Appuhamy *et al.*, 2013).

### **h) Toxicidad en animales**

La escasa capacidad de los antibióticos ionóforos para diferenciar las membranas de los microorganismos de otras células, lleva a que tenga efectos tanto en unas como en otras. En células animales, la monensina induce daño mitocondrial sin cambio aparente en el funcionamiento del aparato de Golgi, efecto que se ha observado en células vegetales. Además, ralentiza y reduce los procesos de endocitosis y exocitosis, así como también afecta los procesos de formación de estructuras externas en la superficie celular y su crecimiento, al reducir la secreción de sustancias responsables de estos procesos (proteoglicanos, colágeno y procolágeno, y fibronectina) (Łowicki & Huczynski, 2013).

Las células musculares esqueléticas y cardíacas generalmente son las más gravemente afectadas; sin embargo, los tejidos específicos afectados y los signos clínicos resultantes varían de una especie a otra (Dowling, 2013). Por otra parte, la intoxicación se puede potenciar con la administración simultánea de tiamulina, cloranfenicol, macrólidos, sulfonamidas y glucósidos cardíacos (Davis & Gookin, 2018).

La susceptibilidad a la toxicosis por monensina varía con la especie animal expuesta, siendo los equinos claramente más susceptibles, con una DL<sub>50</sub> para la vía oral de 2 a 3 mg/kg. Luego le siguen los ovinos, porcinos, caprinos, bovinos, pavos y pollos con valores de DL<sub>50</sub> próximos a los 12, 17, 26, 30, 180 y 200 mg/kg, respectivamente (Álvarez *et al.*, 2002; Dowling, 2013).

## **2) INFORMACIÓN DE LA RESISTENCIA**

### **a) Resistencia en coccidios**

Uno de los principales usos de la monensina es el control de los coccidios. Un inconveniente importante del uso de fármacos anticoccidiales es el desarrollo de resistencia, descriptos para

los principios activos revisados por Peek *et al.* (2006), siendo *E. acervulina* la especie que presenta mayor frecuencia de resistencia. Además, en *Eimeria* spp. en aves de corral, se ha encontrado una resistencia parcial por pasajes sucesivos en presencia de ionóforos (Jenkins *et al.*, 2010; Chapman *et al.*, 2010). Jenkins *et al.* (2010) observaron que ooquistes de *Eimeria* spp. en granjas tratadas con vacunas eran más susceptibles a la salinomicina, que aquellos ooquistes provenientes de granjas en donde se aplicaban fármacos anticoccidiales. A su vez, cuando a estos ooquistes resistentes se les hicieron pasajes en animales “sin presión de selección”, es decir, sin fármacos coccidiostatos o con otro tipo de intervención tales como vacunación (Jenkins *et al.*, 2010; Peek *et al.*, 2006), se ha recuperado la sensibilidad, sugiriendo una resistencia inestable (Chapman *et al.*, 2010). Además, Jenkins *et al.* (2010) suponen que llevaría mucho tiempo que *Eimeria* spp. adquiera resistencia a los fármacos en una operación típica de crianza ya que aún después de pasajes repetidos de *Eimeria* spp. en presencia de salinomicina, no recuperaron cepas resistentes.

Aunque la monensina tiene acción coccidiostática, los efectos sobre los protozoos ruminales comensales parecen ser mínimos y no se han descritos perjuicios sobre la salud y la producción de los animales en este sentido (Towne *et al.*, 1990).

### **b) Resistencia en bacterias**

En líneas generales, los resultados de los estudios microbiológicos realizados hasta el momento sugieren que es poco probable el desarrollo de resistencia adquirida a la monensina y la resistencia cruzada a una serie de antimicrobianos de uso común en medicina veterinaria y humana. El tipo de resistencia que se manifiesta se debe fundamentalmente a un rasgo adaptativo ante las adversidades del entorno bacteriano. Esto se evidencia en el trabajo de Simjee *et al.* (2012), quienes han demostrado que los aislamientos de *Clostridium perfringens*, *Enterococcus faecium* y *E. faecalis* expuestos *in vivo* a monensina, pueden desarrollar resistencia *in vitro* en presencia de altas concentraciones de monensina. Tal efecto es reversible, y se asocia con un aumento del engrosamiento de la pared celular o del glicocalix, sugiriendo un rasgo expresado fenotípicamente, pero no genéticamente estable.

Houlihan & Russell (2003) han observado que cepas de *Clostridium aminophilum*, bacterias ruminales productoras de amoníaco, adaptadas a monensina, se mantenían resistentes durante al menos 28 generaciones aún sin ionóforo presente. Estas cepas presentaban la misma

sensibilidad a los antibióticos penicilina G, ampicilina, cefalosporina C, vancomicina, carbenicilina, tetraciclina, cloranfenicol, eritromicina, estreptomina, lincomicina, rifampicina, trimetoprima, novobiocina, polimixina B que las cepas no adaptadas. Por otro lado, las cepas adaptadas a monensina, sí presentaron resistencia a bacitracina.

Alexander *et al.* (2008) investigaron en 300 novillos de *feedlot* la resistencia antimicrobiana de aislamientos en heces (3300 muestras) de *Escherichia coli* durante un periodo de 314 días. Los animales habían recibido niveles subterapéuticos de antibióticos. Se incluyeron los siguientes grupos: clortetraciclina más sulfametazina, clortetraciclina, virginiamicina, monensina, tilosina o sin suplementos de antibióticos (control). La presencia de monensina no alteró la prevalencia de *E. coli* resistente a tetraciclina, ampicilina y gentamicina. Además, el porcentaje de aislamientos resistentes (*in vitro*) a ceftazidima y cefpodoxima se distribuyó uniformemente entre las muestras de novillos en todos los grupos de alimentación; menos en aquel tratado con monensina.

Para enterococos, Nisbet *et al.* (2008) encontraron que los ionóforos (incluyendo monensina) no seleccionan resistencia antimicrobiana en *E. faecalis* ni en *E. faecium*. Aun así, Jacob *et al.* (2008) encontraron que los aislados de enterococos del ganado alimentado con monensina o monensina y tilosina tenían mayores niveles de resistencia a los macrólidos. Sin embargo, la suplementación del alimento con estos antimicrobianos, no influyó en la proporción de los genes de resistencia *ermB* y *tetM* a la eritromicina y tetraciclina, respectivamente, en la microbiota intestinal.

Mathers *et al.* (2004) demostraron que el uso de alimentos suplementados con bacitracina, clortetraciclina, laidlomina, lasalocid y salinomina, son capaces de inhibir la transferencia del plásmido pBR325, en cepas seleccionadas de bacterias Gram negativas mediante el uso de un modelo *in vitro*. Ello sugiere que estos compuestos, en las concentraciones utilizadas normalmente en las raciones de alimentos para animales, pueden interferir con los mecanismos de captación de ADN asociados a la envoltura celular u otros mecanismos de transformación de las bacterias. En este trabajo se sugiere que, a través de estos mecanismos, los ionóforos y otros aditivos de alimentos que interactúan con la membrana celular bacteriana, podrían actuar inhibiendo los mecanismos de transferencia de genes. En el mismo sentido, estudios realizados en 2003 por Russell *et al.* y Callaway *et al.*, concluyeron que es poco probable que el uso de ionóforos en la alimentación animal tenga un impacto significativo en la transferencia de resistencia a los antibióticos de los animales al hombre.

Otros autores no han encontrado ninguna correlación entre la presencia de genes de resistencia antimicrobiana y la administración de monensina como aditivo alimentario para pollos y ganado (Russel & Houlihan, 2003; Thomas *et al.*, 2017).

Según lo antedicho, las evidencias de la resistencia a los ionóforos parecen ser debidas a una selección fisiológica más que a una mutación o adquisición de genes. Debido a que la sensibilidad bacteriana a los ionóforos está relacionada con el movimiento de los iones, el aumento de la actividad de la bomba de iones podría proporcionar un mecanismo de resistencia que, a su vez, podría afectar la supervivencia de la bacteria en el rumen. El rumen es un entorno altamente competitivo y generalmente de energía limitada; la supervivencia de organismos resistentes *in vitro* no necesariamente implica su persistencia *in vivo*.

### **c) Excreción de patógenos zoonóticos**

En cuanto al efecto sobre patógenos humanos en la microbiota intestinal de animales, se han reportado diversos efectos por la suplementación de monensina. Así, Cox *et al* (2003), informaron una disminución en la prevalencia de *Salmonella* spp en pavos, pero sin afectar la prevalencia de *Campylobacter* spp en dicha especie. Tampoco se vio disminuida la prevalencia de *E. coli* O157:H7 en bovinos (Jacob *et al*, 2008), ni de salmonelas en el contenido cecal de pollos (Butaye *et al*, 2003) y de bovinos (Devant *et al.*, 2009; Jacob *et al.* 2008).

Danzeisen *et al.* (2011) examinaron los efectos de monensina y sus combinaciones con promotores del crecimiento como virginiamicina y tilosina en el microbioma y metagenoma cecal de pollos de engorde. Los efectos de la monensina incluyeron las reducciones de *Roseburia*, *Lactobacillus* y *Enterococcus*, y los enriquecimientos en *Coprococcus* y *Anaerofilum*. El efecto más notable fue el enriquecimiento en *E. coli* observado en los tratamientos de monensina / virginiamicina y monensina / tilosina, pero este efecto no fue observado con la administración exclusiva de monensina.

La suplementación con otro ionóforo (lasalocid) en terneros en un sistema predominantemente basado en forraje no tuvo ningún efecto sobre la incidencia de excreción fecal de *E. coli* O157:H7 o *Salmonella* spp. Además, la suplementación con ionóforos pareció tener poco o ningún impacto en los patrones de sensibilidad antimicrobiana sobre coliformes fecales de los terneros (Edrington, 2006).

### 3) ANÁLISIS DE LA EXPOSICIÓN DE LA RESISTENCIA EN PERSONAS

#### a) Consumo de alimentos de origen animal

El consumo de carne aviar ha mostrado un considerable incremento desde el año 2000 hasta el presente. A inicios del presente siglo en Argentina se consumían 26,6 Kg de carne aviar por persona por año, incrementándose casi un 60% para alcanzar en 2017 un consumo de 41,8 Kg/habitante/año. Por el contrario, si bien el consumo de carne bovina ha experimentado altibajos durante los últimos 18 años, el consumo *per cápita* desde el año 2000 (65,63 Kg/hab/año) hasta el 2017 (58,51 kg/hab/año) no se ha modificado significativamente, mostrando durante ese período de tiempo un rango de variación entre 55,79 Kg/hab/año y 68,92 Kg/hab/año (Ministerio de Agroindustria, 2018).

#### b) Usos de la monensina en medicina humana

Hasta el momento, la monensina no es empleada en medicina humana y, por lo tanto, no se la ha incluido en las categorías formuladas por la Organización Mundial de la Salud en referencia a los antimicrobianos de importancia para la salud humana (*World Health Organization [WHO]*, 2016).

De todas formas, se han desarrollado ensayos experimentales con monensina, salinomicina y maduramicina, los cuales han demostrado ser eficaces frente a diferentes tipos de neoplasias. Así, la maduramicina ha inhibido la proliferación celular e indujo la apoptosis en mioblastos de ratón y rhabdomyosarcoma humano (Chen *et al.*, 2014). Por su parte, la salinomicina resultó ser citotóxica en líneas celulares de cáncer de próstata, mama, colorrectal y en linfoma (Kim *et al.*, 2011; Wang, 2011; Smithrud *et al.*, 2017). En cuanto a la monensina, se ha evidenciado su acción antiproliferativa en líneas celulares de cáncer de colon, linfoma, mieloma (Park *et al.*, 2003a, b; Deitrick & Pruitt, 2016) e incluso cáncer de ovario (Deng *et al.*, 2015). Si bien en la actualidad, estos principios activos ensayados aún no se emplean en humanos, estos estudios demuestran que podrían resultar ser alternativas como quimioterápicos antineoplásicos, para el tratamiento de tumores.

Por otra parte, Wu *et al.* (2016) proponen el uso de la valinomina para el tratamiento de canalopatías neuromusculares en pacientes con fibrosis quística; mientras que la tirotricina puede estar indicada para el tratamiento de infecciones, de heridas pequeñas, superficiales, con



supuración leve (laceraciones, abrasiones, rasguños) en uso exclusivamente tópico (Ministerio de Salud Secretaría de políticas, regulación e Institutos, ANMAT 2011, 2015 y 2017).

#### 4) ANÁLISIS DE LAS CONSECUENCIAS

En base a lo expuesto en los puntos anteriores, se destaca que la monensina: 1) se emplea con elevada frecuencia en bovinos y pollos, cuyo consumo en Argentina es alto, así como el de la leche vacuna y sus derivados; 2) se elimina en forma inactiva casi en su totalidad desde los animales medicados; 3) los residuos que quedan en los tejidos comestibles, respetando el correspondiente período de retiro, son mínimos o nulos; 4) posee un modo de acción muy diferente de los fármacos antimicrobianos de uso convencional (betalactámicos, aminoglucósidos, etc.); 5) la resistencia bacteriana no es adquirida, sino de tipo adaptativa (transitoria); y 6) no tiene uso terapéutico en personas. Con base en las evidencias disponibles, las consecuencias potenciales de la resistencia en bacterias de interés para la salud pública, serían muy poco probables.

Por otra parte, se debe contemplar que el uso intensivo de la monensina como coccidiostato en animales, puede disminuir la sensibilidad del género *Eimeria* a este ionóforo.

## F) CONCLUSIONES FINALES

### a) Limitaciones del informe

- A diferencia de los estudios realizados con antimicrobianos en el hombre y en modelos animales experimentales, actualmente existe información limitada sobre el efecto de la monensina en la microbiota / resistoma animal. Los estudios disponibles generalmente implican la administración de antimicrobianos a una cohorte de animales controlada, seguida de la recolección dependiente del cultivo de un microorganismo de interés para la prueba de sensibilidad.
- Si bien el uso de antimicrobianos siempre puede seleccionar microorganismos resistentes / multirresistentes, existe un vacío en el conocimiento que conecta el uso de la monensina con el flujo de determinantes de resistencia antimicrobiana hacia patógenos multirresistentes implicados en brotes de enfermedades humanas.

### b) Conclusiones

- Tanto estructuralmente como en términos de su modo de acción y mecanismo de resistencia, la monensina es diferente a otros compuestos antimicrobianos actualmente aprobados para uso en medicina humana.
- Aún no existe evidencia científica de que el incremento de la resistencia bacteriana hacia los antimicrobianos categorizados como prioritarios para uso humano, surja de la exposición a ionóforos como la monensina.
- La información científica disponible hasta el momento indica que la resistencia hacia los ionóforos en general y la monensina en particular, descrita en coccidios aislados de animales de consumo, es lenta y reversible.

### c) Recomendaciones

Con la información disponible al día de hoy se pueden sostener las conclusiones; sin embargo, dado que la utilización de antimicrobianos puede seleccionar la aparición de resistencias por mecanismos no previsibles, creemos necesario que:

- Se revise la información científica disponible en forma periódica, con el objeto de analizar si existe nueva evidencia que amerite la modificación de las conclusiones de este documento.

- Se considere la inclusión de la monensina dentro de los programas de vigilancia epidemiológicos de resistencia antimicrobiana. Dado que muchas bacterias Gram negativas son naturalmente resistentes, deben revisarse las especies a incluir al momento de diseñar ensayos de vigilancia.
- Se vigile la emergencia de resistencia en coccidios por el uso intensivo de monensina en producción avícola y bovina.
- Se controle la emergencia de resistencia cruzada a otras familias de antimicrobianos, por el uso habitual de ionóforos en animales destinados a consumo.

**G) REFERENCIAS**

- Alexander, T.W.; Yanke, L.J.; Topp, E.; Olson, M.E.; Read, R.R.; Morck, D.W.; McAllister, T.A. 2008. Effect of subtherapeutic administration of antibiotics on the prevalence of antibiotic-resistant *Escherichia coli* bacteria in feedlot cattle. *Applied and Environmental Microbiology*, 74: 4405 – 4416.
- Álvarez, L.I.; Moreno Torrejón, L.; Mottier, M.L.; Sánchez, S.F. 2002. Antiparasitarios internos; Sección II: Fármacos protozoocidas. En: Botana López, L.M.; Landoni, M.F.; Martín Jiménez, T. *Farmacología y terapéutica veterinaria*. Ed. McGraw-Hill-Interamericana. Madrid, (España), pp. 534 – 544.
- Appuhamy, J.R.N.; Strathe, A.B.; Jayasundara, S.; Wagner-Riddle, C.; Dijkstra, J.; France, J.; Kebreab, E. 2013. Anti-methanogenic effects of monensin in dairy and beef cattle: A meta-analysis. *Journal of Dairy Science*, 96: 5161 – 5173.
- Bergen, W.G.; Bates, D.B. 1984. Ionophores: their effect on production efficiency and mode of action. *Journal of Animal Science*, 58: 1465 – 1483.
- Butaye, P.; Devriese, L.A.; Haesebrouck, F. 2003. Antimicrobial growth promoters used in animal feed: effects of less well known antibiotics on Gram positive bacteria. *Clinical Microbiology Reviews*, 16: 175–188.
- Callaway, T.R.; Edrington, T.S.; Rychlik, J.L.; Genovese, K.J.; Poole, T.L.; Jung, Y.S.; Bischoff, K.M.; Anderson, R.C.; Nisbet, D.J. 2003. Ionophores: their use as ruminant growth promotants and impact on food safety. *Current Issues in Intestinal Microbiology*, 4: 43 – 51.
- Callaway, T.R.; Russell, J.B. 1999. Selection of a highly monensin-resistant *Prevotella bryantii* subpopulation with altered outer membrane characteristics. *Applied and Environmental Microbiology*, 65: 4753 – 4759.
- Chapman, H. D.; Jeffers, T. K.; Williams, R. B. 2010. Forty years of monensin for the control of coccidiosis in poultry. *Poultry Science*, 89: 1788 – 1801.
- Chen, X.; Gu, Y.; Singh, K.; Shang, C.; Barzegar, M.; Jiang, S.; Huang, S. 2014. Maduramicin inhibits proliferation and induces apoptosis in myoblast cells. *PLOS ONE*, 9: e115652.
- Comisión del Codex Alimentarius .2017. Límites máximos de residuos (LMR) y recomendaciones sobre la gestión de riesgos (RGR) para residuos de medicamentos

veterinarios en los alimentos. CAC/MRL 2-2017. Actualizado en la 40ª Sesión de la Comisión del Codex Alimentarius. Disponible en: [goo.gl/WmF2Jq](http://goo.gl/WmF2Jq).

Cox, N.A.; Craven, S. E.; Musgrove, M. T.; Berrang, M. E.; Stern, N. J. 2003. Effect of sub-therapeutic levels of antimicrobials in feed on the intestinal carriage of *Campylobacter* and *Salmonella* in turkeys. *Journal of Applied Poultry Research*, 12: 32 – 36.

Danzeisen, J.L.; Kim, H.B.; Isaacson, R.E.; Tu, Z.J.; Johnson, T.J. 2011. Modulations of the chicken cecal microbiome and metagenome in response to anticoccidial and growth promoter treatment. *PLoS One*, 6 (11): e27949.

Davis, J.; Gookin, J. 2018. Antiprotozoan Drugs. In: Riviere, J. and Papich, R. *Veterinary pharmacology and therapeutics*. 10ª ed. Ed. John Wiley & Sons, Inc. Hoboken, NJ. USA, pp: 1128 – 1165.

Deitrick, J.; Pruitt, W.M. 2016. Wnt/ $\beta$  catenin-mediated signaling commonly altered in colorectal cancer. *In Progress in Molecular Biology and Translational Science*, 144: 49 – 68.

Deng, Y.; Zhang, J.; Wang, Z.; Yan, Z.; Qiao, M.; Ye, J.; Wei, Q.; Wang, J.; Zhao, L.; Lu, S.; Tang, S.; Mohammed, M.K.; Liu, H.; Fan, J.; Zhang, F.; Zou, Y.; Liao, J.; Qi, H.; Haydon, R.C.; Luu, H.H.; He, T.C.; Tang, L. 2015. Antibiotic monensin synergizes with EGFR inhibitors and oxaliplatin to suppress the proliferation of human ovarian cancer cells. *Scientific Reports*, 5: 17523.

Devant, M.; Adelantado, C.; Anglada, A.; Calvo, M. A.; Bach, A. 2009. Effect of plant extract supplementation on *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* carcass isolation in young Holstein bulls fed a high-concentrate diet. *Journal of Food Protection*, 72: 147 – 150.

Dowling, P.M. 2013. Miscellaneous antimicrobials: ionophores, nitrofurans, nitroimidazoles, rifamycins, and others. In: Giguère, S.; Prescott, J.F.; Dowling, P.M (Eds). *Antimicrobial therapy in veterinary medicine*. 5<sup>th</sup> ed. Ed: John Wiley & Sons, Iowa (USA), pp: 315 – 332.

Duffield, T.F.; Merrill, J.K.; Bagg, R.N. 2012a. Meta-analysis of the effects of monensin in beef cattle on feed efficiency, body weight gain, and dry matter intake. *Journal of Animal Science*, 90: 4583 – 4592.

Duffield, T.F.; Rabiee, A.; Lean, I.J. 2012b. Overview of meta-analysis of monensin in dairy cattle. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, 28:107-119.

European Medicines Agency. European public MRL assessment report (EPMAR). Committee for Medicinal Products for Veterinary Use (CVMP). Monensin (modification of MRLs). EMA/CVMP/78198/2012 - 4 February 2013.

Houlihan, A.J.; Russell, J.B. 2003. The susceptibility of ionophore-resistant *Clostridium aminophilum* F to other antibiotics. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 52: 623 – 628.

Jacob, M.E.; Fox, J.T.; Narayanan, S.K.; Drouillard, J.S.; Renter, D.G.; Nagaraja, T.G. 2008. Effects of feeding wet corn distillers grains with solubles with or without monensin and tylosin on the prevalence and antimicrobial susceptibilities of fecal foodborne pathogenic and commensal bacteria in feedlot cattle. *Journal of animal science*, 86: 1182 – 1190.

Jenkins, M.; Klopp, S.; Ritter, D.; Miska, K.; Fetterer, R. 2010. Comparison of *Eimeria* species distribution and salinomycin resistance in commercial broiler operations utilizing different coccidiosis control strategies. *Avian Diseases*, 54: 1002 – 1006.

Jerez, A.; Chihuailaf, R.; Gai, M.; Noro, M.; Wittwer, F. 2014. Detection of lasalocid and monensin in raw milk samples from supplemented dairy cows. *Archivos de Medicina Veterinaria*, 46: 445 – 449.

Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives; JECFA. 2008. Evaluation of certain veterinary drug residues in food. Seventieth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. WHO technical report series; n° 954. Disponible en: [goo.gl/7V4BWP](http://goo.gl/7V4BWP).

Kim, K.Y.; Yu, S.N.; Lee, S.Y.; Chun, S.S.; Choi, Y.L.; Park, Y.M.; Song, C.S.; Chatterjee, B.; Ahn, S.C. 2011. Salinomycin-induced apoptosis of human prostate cancer cells due to accumulated reactive oxygen species and mitochondrial membrane depolarization. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 413: 80 – 86.

Koluman, A.; Dikici, A. 2013. Antimicrobial resistance of emerging foodborne pathogens: Status quo and global trends. *Critical Reviews in Microbiology*, 39: 57–69.

Lowe, L.B.; Ball, G.J.; Carruthers, V.R.; Dobos, R.C.; Lynch, G.A.; Moate, P.J.; Poole, P.R.; Valentine, S.C. 1991. Monensin controlled-release intraruminal capsule for control of bloat in pastured dairy cows. *Australian Veterinary Journal*, 68: 17 – 20.

Łowicki, D.; Huczyński, A. 2013. Structure and Antimicrobial Properties of Monensin A and Its Derivatives: Summary of the Achievements. *BioMed Research International*, Article ID 742149, 14 pages.

Mathers, J.J.; Clark, S.R.; Hausmann, D.; Tillman, P.; Benning, V.R.; Gordon, S.K. 2004. Inhibition of resistance plasmid transfer in *Escherichia coli* by ionophores, chlortetracycline, bacitracin, and ionophore/antimicrobial combinations. *Avian Diseases*, 48: 317 – 323.

Marshall, B.M.; Levy, S.B. 2011. Food animals and antimicrobials: impacts on human health. *Clinical Microbiology Reviews*, 24: 718 – 733.

Ministerio de Agroindustria. 2018. Indicadores mensuales del sector bovino. Disponible en: [goo.gl/ccGDpo](http://goo.gl/ccGDpo).

Ministerio de Salud Secretaría de políticas, regulación e Institutos (ANMAT). 2011. Disposición 5662. Disponible en: [goo.gl/NhtK9Y](http://goo.gl/NhtK9Y).

Ministerio de Salud Secretaría de políticas, regulación e Institutos (ANMAT). 2015. Disposición 1931. Disponible en: [goo.gl/xMzDyd](http://goo.gl/xMzDyd)

Ministerio de Salud Secretaría de políticas, regulación e Institutos (ANMAT). 2017. Disposición 3558. Disponible en: [goo.gl/Uktn5L](http://goo.gl/Uktn5L)

Neumann, M.; Kyoshi Ueno, R.; Heker Junior, J.C.; Askel, E.J.; de Souza, A.M.; Delai Vigne, G.L.; Poczynek, M.; Gavanski Coelho, M.; Kendi Eto, A. 2018. Growth performance and safety of meat from cattle feedlot finished with monensin in the ration. *Ciências Agrárias, Londrina*, 39: 697 – 710.

Nisbet, D.J.; Callaway, T.R.; Edrington, T.S.; Anderson, R.C.; Poole, T.L. 2008. Effects of ionophores on *Enterococcus faecalis* and *E. faecium* growth in pure and mixed ruminal culture. *Foodborne Pathogens and Disease*, 5: 193 – 198.

Organización Mundial de Sanidad Animal, OIE. 2015. Lista de agentes antimicrobianos importantes para la medicina veterinaria. Disponible en: [goo.gl/3xSFMZ](http://goo.gl/3xSFMZ)

Park, W.H.; Kim, E.S.; Jung, C.W.; Kim, B.K.; Lee, Y.Y. 2003a. Monensin-mediated growth inhibition of SNU-C1 colon cancer cells via cell cycle arrest and apoptosis. *International Journal of Oncology*, 22: 377 – 382.

Park, W.H.; Kim, E.S.; Kim, B.K.; Lee, Y.Y. 2003b. Monensin-mediated growth inhibition in NCI-H929 myeloma cells via cell cycle arrest and apoptosis. *International Journal of Oncology*, 23: 197 – 204.

Peek, H.W.; Landman, W.J.M. 2006. Higher incidence of *Eimeria* spp. field isolates sensitive for diclazuril and monensin associated with the use of live coccidiosis vaccination with paracox-5 in broiler farms. *Avian Diseases*, 50: 434 – 439

Russell, J.B.; Houlihan, A.J. 2003. Ionophore resistance of ruminal bacteria and its potential impact on human health. *FEMS Microbiology Reviews*, 27: 65 – 74.

Smithrud, D.B.; Powers, L.; Lunn, J.; Abernathy, S.; Peschka, M.; Ho, S.M.; Tarapore, P. 2017. Ca<sup>2+</sup> selective host rotaxane is highly toxic against prostate cancer cells. *ACS Medicinal Chemistry Letters*, 8, 163 – 167.

Simjee, S.; Heffron, A.; Pridmore, A.; Thomas, R.; Shryock, T.R. 2012. Reversible monensin adaptation in *Enterococcus faecium*, *Enterococcus faecalis* and *Clostridium perfringens* of cattle origin: potential impact on human food safety. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 67: 2388 – 2395.

Thomas, M.; Webb, M.; Ghimire, S.; Blair, A.; Olson, K.; Fenske, G.J.; Fonder, A.T.; Christopher-Hennings, J.; Brake, D.; Scaria, J. 2017. Metagenomic characterization of the effect of feed additives on the gut microbiome and antibiotic resistome of feedlot cattle. *Scientific Report*, 7: 12257.

Towne, G.; Nagaraja, T.G.; Brandt, Jr. R.T.; Kemp, K.E. 1990. Ruminal ciliated protozoa in cattle fed finishing diets with or without supplemental fat. *Journal of Animal Science*. 68: 2150 – 2155.

Unión Europea. 2010. Wang de la Comisión de 22 de diciembre de 2009 relativo a las sustancias farmacológicamente activas y su clasificación por lo que se refiere a los límites máximos de residuos en los productos alimenticios de origen animal. Disponible en: [goo.gl/ZGPcgH](http://goo.gl/ZGPcgH)

Unión Europea. 2013. Reglamento de Ejecución (UE) 59/2013 de la Comisión de 23 de enero de 2013. Disponible en: [goo.gl/RSrKSE](http://goo.gl/RSrKSE)

Wang, Y. 2011. Effects of salinomycin on cancer stem cell in human lung adenocarcinoma A549 cells. *Medicinal Chemistry*, 7: 106 – 111.



World Health Organization. 2016. Critically important antimicrobials for human medicine: ranking of antimicrobial agents for risk management of antimicrobial resistance due to non-human use. 5<sup>th</sup> Revision. WHO Advisory Group on Integrated Surveillance of Antimicrobial Resistance (AGISAR). WHO Press, World Health Organization, Geneva, Switzerland.

Wu, X.; Judd, L.; Howe, L.; Withecombe, A.; Soto-Cerrato, V.; Li, H.; Busschaert, N.; Valkenier, H.; Perez-Tomas, R.; Sheppard, D.; Jiang, Y.; Davis, A.; Gale, P. 2016. Nonprotonophoric electrogenic Cl<sup>-</sup> transport mediated by valinomycin-like carriers. *Chem*, 1: 127 – 146.