

Quimioterapia Antibacteriana Veterinaria: Evolución y Desafíos

Jorge Oscar Errecalde

**Médico Veterinario, Médico, Doctor en Ciencias Veterinarias, Bachelor Honors in Veterinary Science, Master in Pharmacology and Toxicology
Miembro Honorario del Colegio Europeo de Farmacología y Toxicología Veterinaria
Miembro de la Academia Americana de Farmacología y Terapéutica Veterinaria
Profesor Titular, Cátedra de Farmacología, Farmacotecnia y Terapéutica, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata
Profesor Titular, Cátedra de Farmacología Básico y Farmacodinamia, Facultad de Medicina, Universidad Nacional de La Plata.**

Paradigmas y paradojas

La humanidad genera conocimientos a una velocidad cada vez mayor. Tenemos el privilegio no solamente de vivir, sino de hacerlo en una época apasionante. El conocimiento se duplica cada cinco años, hay, en el mundo cien millones de cibernautas, que serán, a fines de esta década, mil. Se espera que, para el año 2020, el conocimiento se duplique cada dos meses. Paradójicamente, y en relación a la evolución del conocimiento general de la humanidad, un estudiante que comienza una carrera universitaria, la termina con menos conocimientos que cuando la comenzó.

Los cambios que esta evolución determinan, nos hacen enfrentar paradojas y cambios de paradigmas continuamente. Sabemos que nuestras sociedades se rigen por determinados paradigmas y que esos paradigmas, de los tipos más diversos, difieren según de que sociedad se trate. Hay sociedades africanas en que la cultura asociada al clima hace que las mujeres desarrollen sus actividades cotidianas «top less» (sin prendas de la cintura hacia arriba) habitualmente, lo que no sería fácilmente aceptado en sociedades como la nuestra. Si bien en la mayoría de las sociedades occidentales la mujer puede usar pantalones, no sería bien visto que un hombre portara polleras, salvo algún caso puntual y tradicional como Escocia. Estos son simples ejemplos de paradigmas de la vida común. Existen paradigmas científicos, por supuesto. Un paradigma de la biología, desde Anthony Von Leeuwenhoek (siglo XVII), es la existencia de seres microscópicos, las bacterias entre ellos, algunos de los cuales generan graves enfermedades. Y desde la década del 30, otro paradigma nos dice que esos seres vivos pueden ser eliminados utilizando antibióticos.

Desde Alexander Fleming, descubridor de la penicilina, hubo una sensación general de que la batalla frente a las bacterias patógenas había sido ganada definitivamente. Fue un error. Tuvo que caer ese paradigma –al

demostrarse la resistencia bacteriana- para que el optimismo se amenguase y comenzáramos a comprender la complejidad del tema.

Bien fue manifestado por el científico danés Niels Bohr, quien expresó que el toparse con una paradoja era bueno, porque representaba la posibilidad de avanzar en el conocimiento.

La evolución de la medicina

La medicina en sus orígenes fue ejercida dentro de los grupos familiares. Los fármacos se originaron de la experiencia de la alimentación. El padre ejercía el rol de encargado de curar. El jefe del grupo era el que tenía la responsabilidad mayor, que con la evolución fue siendo transferida al brujo. Existía la creencia en genios buenos y malos, de la enfermedad y de la salud. En la Figura 1 se pueden ver dos representaciones de genios de eras antiguas, entre 3000 y 5000 años aC.



Figura1:Geniosdel bien y del mal (Colección Benjamin Lee Gordon).

La humanidad avanzó lentamente hacia su desarrollo. Pasaron muchos años con muy escaso avance, basado en esfuerzos eminentemente individuales. Esa es la razón por la que conocemos los nombres de los científicos, filósofos, médicos, inventores de tiempos remotos.

Hasta hace relativamente poco tiempo los exorcismos eran aplicados sistemáticamente a casos de dementes que proferían insultos o exhibían conductas violentas (al mismo tiempo que eran considerados «elevados», los dementes con delirios místicos).

En los inicios del siglo XX, la terapéutica seguía siendo bastante elemental y primitiva. En el tratado de A. Manquat, *Thérapeutique*, editado por Balliere en 1917, se describen cinco tipos de medicamentos: específicos (mercuriales y arsenicales), antiinfecciosos indiferentes, metales coloidales, revulsivos, antisépticos, antiparasitarios, y antidotos. Consideremos que los metales pesados mencionados fueron utilizados en terapéutica de las enfermedades infecciosas hasta bien avanzado el siglo XX. Evidentemente, se estaba muy lejos de los resultados que menos de 100 años después, la medicina actual obtiene.

El descubrimiento de los antibióticos

Es un poco difícil definir cuándo comienza la historia de los antibióticos, o mejor aún, de los quimioterápicos. Sin embargo, podemos citar que en los primeros años del siglo XX, cuando Paul Ehrlich anunció la eficacia del salvarsán para el tratamiento de la sífilis, muchos pensaron que la lucha contra las enfermedades infecciosas había sido ganada. Lo promisorio de este hallazgo, sin embargo, no sirvió como estimulante de la investigación y el descubrimiento, ya que, en el año 1914 estalla la primera guerra y, durante seis largos años, las urgencias impiden que se piense en desarrollos futuros. Después de 1920, nuevamente se inicia el proceso creador y surgen novedades en el terreno de los protozoocidas como la atebрина para el tratamiento del paludismo o de la triparisamida para el combate de la enfermedad del sueño.

Es interesante mencionar, como relata Iago Galdston (1943) que Calvin Coolidge, hijo del trigésimo presidente de los Estados Unidos, murió el 7 de julio de 1924 como consecuencia de una septicemia. Una semana antes el joven se había hecho una herida en el dedo de un pie. Parecía poco importante. Sin embargo, fue la puerta de entrada de su muerte, ya que, el martes se lesionó, el miércoles a la noche se quejó de fuertes dolores en la ingle, pensándose en apendicitis. Se llamaron especialistas que llegaron rápidamente al verdadero diagnóstico el día jueves: septicemia. Se luchó con todo y lo mejor para salvarlo, todo fue en vano, en una semana murió. La muerte había triunfado, no había herramientas para la lucha.

Doce años después (1936), los diarios atraían al lector con otra noticia de similar impacto: Franklin Delano Roosevelt, hijo de otro presidente, estaba muy enfermo. Pero había más esperanzas, dado que se disponía de un medicamento

capaz de matar microorganismos dentro de la corriente sanguínea. Así, a través de la curación de Roosevelt hijo, el público conoció el Prontosyl, la primera sulfamida. En 1935 Domagk había presentado su primera monografía sobre eficacia del Prontosyl.

En ese momento, alguien dijo, y con razón, que probablemente, el siglo XX iba a ser conocido como el siglo de las sulfamidas. Ocurre que se ignoraba lo que desde hacía tiempo estaba ocurriendo en el Hospital St Mary de Londres. Allí Alexander Fleming trabajaba duro, multiplicando diversas variedades de gérmenes causantes de infecciones supuradas. En el curso de su investigación, una fortuita observación, analizada con espíritu crítico, produjo el inicio de un proceso que culminó con la obtención de la penicilina. Sin embargo, no fue rápido el desarrollo y la adopción del nuevo medicamento. Al contrario, en los primeros años, Fleming no obtuvo eco en los ambientes médicos. Mientras él estudiaba el hongo, sus productos de secreción, sus estructuras químicas, la existencia del Atoxyl, Salvarsán y Prontosyl, entre otras sustancias, hacía pensar que todo estaba resuelto. Nadie prestaba atención al nuevo descubrimiento. Pasaron diez largos años, las sulfamidas no solamente habían demostrado su eficacia, sino que se conocía como actuaban.

Una vez que se comenzó a utilizar en forma rutinaria la penicilina, las bajas cantidades disponibles eran la gran limitante. Se debió pasar a una nueva etapa, la escala industrial en la elaboración del fármaco. Si bien a través de pasos sucesivos los cultivos del hongo se fueron haciendo más eficaces en la producción de la droga, el punto de inflexión se produjo cuando los investigadores descubrieron una nueva variedad del hongo que se podía cultivar en profundidad y eso permitió la utilización de grandes tanques de fermentación. Esto ocurría en los primeros años de la década del 40. La revolución de los antibióticos había comenzado.

La resistencia a los antimicrobianos, sus mecanismos y epidemiología

La base del desarrollo de la resistencia bacteriana está en la selección de cepas resistentes que producen ciertas concentraciones de antibiótico. El antibiótico no induce resistencia, solamente selecciona. Es una interferencia en el proceso de selección natural. Donde antes se seleccionaban las bacterias más aptas para la sobrevivencia en el sitio del organismo de que se trate, en presencia del antibacteriano, sobrevivirán solamente aquellas variantes capaces de sobrevivir a las concentraciones de antibiótico presentes en ese lugar.

El uso de los antibacterianos ha cambiado no solamente los cuadros sintomatológicos que habían sido excelentemente descriptos en siglos anteriores de buena clínica, sino las bacterias mismas, sus susceptibilidades y, consecuentemente, las posibilidades de tratamiento y curación.

Luego de la introducción en la clínica de cada nueva droga, es un proceso probablemente inevitable, que en un plazo variable de tiempo, aparezcan variantes

resistentes de la bacteria contra la que se pretende luchar con la nueva arma. Esto se ha ido cumpliendo inexorablemente con la mayoría de los agentes antimicrobianos.

La resistencia de una bacteria no es la misma para todos los miembros de la población. Para individuos indiferenciables morfológica o bioquímicamente, puede haber variedades con susceptibilidades totalmente diferentes. Puede haber microorganismos muy susceptibles, es decir que son eliminadas por bajas concentraciones del antibiótico, o muy resistentes, que son muy difíciles de erradicar, aún administrando el antibacteriano en concentraciones elevadas. Pero cuando se hace un aislamiento de una determinada infección, se supone que se trata de una cepa bastante pura, que es la que produce el proceso morboso. Al estudiar su susceptibilidad a un determinado agente antiinfeccioso a través de su CIM, podremos, al correlacionar este parámetro con sus variables farmacocinéticas, estimar su eficacia «in vivo». Cuando las concentraciones que el antimicrobiano puede alcanzar en el organismo no superan la CIM sustancialmente y durante tiempos prolongados, aunque vinculados al tipo de agente de que se trate, la bacteria tiene todas las posibilidades para sobrevivir y la podemos definir como resistente. En cambio, cuando ocurre lo opuesto, la bacteria es definida como susceptible.

Esto es lo que ocurre con las resistencias adquiridas, aquellas en que el antibacteriano actúa, como se ha explicado, seleccionando entre microorganismo resistentes y susceptibles. Pero hay otro tipo de resistencias, las denominadas resistencias intrínsecas, aquellas que son parte constitutiva de la bacteria. Por ejemplo las diferencias, de membrana entre bacterias Gram positivas y Gram negativas, hacen que los antibióticos beta lactámicos no encuentren el receptor adecuado para fijarse y ejercer su efecto.

Sin embargo, es la resistencia adquirida la que nos interesa y sobre ella nos vamos a extender más. El origen de la resistencia adquirida es genético. El puntapié inicial de la resistencia es una mutación que permite que algún mecanismo bacteriano cambie lo suficiente para que los sistemas que la droga normalmente modifican, no existan más o sean suficientemente distintos como para que el antimicrobiano no pueda actuar. Sobre esta mutación actúa luego la selección ejercida por el antibiótico. Mayor importancia aún tiene el mecanismo de la transferencia de material genético.

En términos generales, las resistencias no parecieran tan difundidas en bacterias Gram positivas. Las Gram positivas no son capaces de incorporar plásmidos. Este no es el caso de los estafilococos, en los que las resistencias a los antimicrobianos se han transformado en un serio problema. En el caso de los Gram negativos, esto sí que es grave. La resistencia está diseminada en organismos Gram negativos y se transfiere con facilidad.

La transmisibilidad de los factores de resistencia puede dar lugar a un problema aún mayor: la multiresistencia. Estos microorganismos no solamente

son resistentes a una serie de drogas, sino que esa multirresistencia sigue siendo transferible, por lo que se transforman en reservorios y diseminadores de resistencia. Otro factor de riesgo es la capacidad de sobrevivir en ausencia del antibiótico protector.

Las resistencias cromosómicas

Este tipo de resistencias dan lugar, en general, a cambios estructurales. Son cambios, en general, graduales. Estas mutaciones pueden generar muy profundos (y algunas veces rápidos) cambios en el nivel de resistencia, como es el caso de la estreptomina cuya CIM puede aumentar mil veces a través de una sola mutación. Clásicamente, antes de conocerse los mecanismos que la producían, el desarrollo de resistencias rápidas fue definido como resistencia tipo estreptomina. La mayoría de las veces, las mutaciones son escalonadas, lentas, como en el caso de las quinolonas.

La estreptomina, utilizada como tuberculostático humano durante muchos años, de experiencia, fue siendo asociada con otros tuberculostáticos, para aumentar la eficacia y, fundamentalmente para prevenir el desarrollo de resistencias. Esto, que actualmente tiene vigencia, también debería ser utilizado en el caso de drogas como rifampicina y ácido nalidixico, para las cuales las bacterias también desarrollan rápidamente resistencias y que, siendo asociadas, disminuyen la posibilidad de mutación frente a dos agentes de mecanismos de acción distintos. La vancomicina, en el otro extremo es una droga para cuya resistencia difícilmente las bacterias muten.

Las resistencias transferibles

El conocimiento de este fenómeno, ignorado en su magnitud hasta hace pocos años, ha revolucionado el ambiente médico. La posibilidad de que las bacterias intercambien material genético y con el mismo, resistencias, puede incrementar enormemente la diseminación de los microorganismos resistentes. La resistencia está codificada en ADN extracromosómico que se autoduplica dentro de la bacteria y es transferido a otras por mecanismos varios, que veremos más adelante. La primera descripción de resistencia transferible fue hecha en Japón en los años 50 (Davies, 1994). Sin embargo, se ignoraba la magnitud e importancia que ese fenómeno iba a tener en el tratamiento de las enfermedades infecciosas humanas y animales.

Los genes que codifican resistencia a antibióticos fluyen desde y hacia bacterias Gram positivas y Gram negativas y bacterias que habitan nichos extremadamente diferentes.

Es muy importante, como lo menciona Prescott (2002), considerar que, probablemente haya sido el interés científico, que haya enfocado sus prioridades sobre las bacterias patógenas, desestimando lo que podría ocurrir con las saprófitas. Mientras tanto, esta porción «inofensiva» de la población bacteriana

de los organismos animales y humanos siguió actuando como reservorio de resistencias.

Los mecanismos de transferencia de resistencias pueden clasificarse en:

- Transducción
- Transformación
- Conjugación
- Transposones
- Integrones

Transducción: En este caso, la porción circular de ADN extracromosómico codificado para resistencia a un determinado antibiótico (plásmido) es incorporado por un virus y transferido a otra bacteria. En general se cita como ejemplos a los bacteriófagos.

Transformación: Se trata de un mecanismo de gran importancia, en que bacterias de géneros muy cercanos se transfieren resistencia como consecuencia de la unión y entrecruzamiento de moléculas de ADN desnudo que pasa de una célula a otra.

Conjugación: En este caso las bacterias se unen a través de pilos sexuales, a través de los cuales pasan plásmidos que codifican resistencias. La bacteria dadora guarda copias de esos plásmidos y la receptora, puede replicar ese ADN y se transforma en dadora. Si bien esto ocurre más frecuentemente entre bacterias parecidas, puede ocurrir entre Gram positivas y Gram negativas.

Transposones: Son los ya clásicamente conocidos como genes saltarines. Son cadenas cortas de ADN que saltan de cromosoma a plásmido, en uno u otro sentido o entre plásmidos. La característica más saliente de este tipo de material es la de integrarse con facilidad a cadenas de ADN diferente del original.

Integrones: Diferentes de los transposones pero de mecanismos algo parecidos. Se recombinan en un sitio específico y codifican resistencia a un solo antibiótico. Junto con los transposones, son los sistemas que más actúan en la adquisición de resistencias por parte de los plásmidos (Hall, 1997).

Cuales son los mecanismos de resistencia

Las bacterias pueden volverse resistentes a los antimicrobianos, pero por que mecanismos? Así como el primer mecanismo de acción de un agente infeccioso conocido fue el de las sulfamidas, el primer mecanismo de resistencia conocido también fue el de estas drogas. Si bien son varios los mecanismos de resistencia de las sulfas que actualmente se conocen, podemos decir que la hiperproducción de PABA fue el primero en determinarse. Además de la hiperproducción metabólica, otros mecanismos incluyen: Inactivación enzimática de los antibióticos, como es el caso de las enzimas beta lactamasas.

Impermeabilidad de la membrana o pared celular, expulsión por mecanismos activos del antibiótico y alteración de los receptores de la droga.

Bacterias resistentes en medicina veterinaria

Es evidente la relación entre antibióticos y resistencia bacteriana. No obstante, es claro también que hay bacterias que desarrollan resistencias con mayor facilidad que otras.

También es cierto que mucho se habla y poco se comprueba sobre las resistencias humanas y animales y las eventuales transferencias entre especies.

En medicina veterinaria existen casos bien documentados de *Salmonella* que puede afectar también al hombre y otras entéricas Gram negativas como *Escherichia coli*. Un importante elemento de riesgo es el enorme potencia de intercambio genético que existe en el intestino. Esta es una de las causas que explican que sean estos dos géneros Gram negativos los que representen los mayores riesgos de transferencia zoonótica de resistencias.

La resistencia de *E. coli* a los antibióticos es un fenómeno descrito hace tiempo y la vinculación entre la aplicación de antibióticos y su emergencia está demostrada.

La manutención de animales en condiciones de crianza intensiva, bajo presión quimioterápica, es la forma ideal de generar resistencias. Este hecho fue demostrado por primera vez en 1957 por Smith, en cerdos tratados con tetraciclinas en la dieta. Debemos tener presente que fue en esa época cuando la actividad promotora del crecimiento de los antibióticos fue descubierta y utilizada en forma extensiva. Con el pasaje del tiempo, esas cepas resistentes de *E. coli* compitieron con éxito con la susceptibles en el contenido intestinal. Uno de los problemas actuales es que incluso la suspensión de los tratamientos con tetraciclinas puede no resolver el problema dado que por acción de los transposones, la codificación de la resistencia radica, en muchos casos, en los cromosomas.

En general, y cuando un tratamiento es corto, hay una eliminación de cepas saprófitas sensibles de *E. coli* y una enorme predominancia de cepas resistentes. Sin embargo, no se trata de un fenómeno permanente. Las bacterias persistirán, si el antibiótico continúa siendo administrado. Si no, pierden su defensa, y las bacterias susceptibles vuelven a predominar. Cuando, por el contrario, el uso del antibiótico es por tiempos prolongados, aquí los organismos resistentes pueden persistir, incluso sin el antibiótico que los proteja.

El caso de la *Salmonella typhimurium* es interesante, dado que la multirresistencia en aislamientos animales ha sido descrita extensivamente. Hay ciertos bacteriófagos que toman plásmidos de *E. coli* y la pueden transferir a *S. typhimurium*. Los casos de resistencia de *S. typhimurium* son comunes en aislamientos de terneros.

Históricamente, aislamientos de serotipos multiresistentes de *S. typhimurium* fueron hechos en 1965. En esa época el microorganismo comenzó a presentarse en la población humana. En 1978, cepas multiresistentes, nuevamente causaron estragos en la población bovina en G. Bretaña. Este brote cruzó al continente europeo y también se presentaron casos humanos. También en USA se describieron casos de antibióticorresistencia en *Salmonella*, relacionándosela con infecciones y resistencia en animales.

El uso racional de los antimicrobianos

Indiscutiblemente el uso racional de los antimicrobianos es la herramienta fundamental para evitar entrar en la época post-antibiótica. La resistencia a los antimicrobianos un problema que genera preocupación internacional. Las tres organizaciones internacionales que tienen responsabilidades sobre este tema, la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), la Organización Internacional de Epizootias (OIE) y la Organización Mundial de la Salud (OMS), han mostrado, reiteradamente, su interés en el tema y han producido documentos aportando recomendaciones para la utilización adecuada de este tipo de fármacos.

Estas organizaciones, hasta la fecha han coincidido en una serie de recomendaciones, reflejadas en publicaciones que abarcan las siguientes áreas:

- Responsabilidad de las autoridades regulatorias y otras con poder de decisión.
- Calidad de manufactura.
- Marketing, distribución y ventas de este tipo de productos.
- Agentes promotores del crecimiento.
- Monitorización de resistencia y utilización de antimicrobianos.
- Uso prudente de antimicrobianos.
- Uso profiláctico de antimicrobianos.
- Entrenamiento y educación.
- Investigación.

Además de la organización de grupos de trabajo, publicación de documentos y difusión de material bibliográfico para conocimiento de técnicos y público en general, estas organizaciones internacionales siguen adelante con su política de aportar soluciones a este tema que, como hemos dicho, es una preocupación mundial.

El uso racional de antimicrobianos es una inquietud de nuestro grupo de trabajo desde hace muchos años. Hemos publicado diversos documentos y

realizado una serie de comunicaciones y conferencias apuntando a la mejora de los criterios de utilización de antimicrobianos en animales. La utilización racional de este tipo de medicamentos en establecimientos productores de leche a efectos de optimizar sus acciones previniendo efectos en la salud pública debe ser una prioridad. Para esto, hemos insistido, a través de diversos documentos y reuniones de entrenamiento, en que se deben poner en práctica planes de administración adecuados, respetándose los períodos de retirada correspondientes a cada formulación (Errecalde, 1994, 1996; Mestorino, 2001). Hemos propuesto la utilización de sistemas de HACCP (análisis de riesgos y control de puntos críticos) para la correcta utilización de estos agentes evitando la presencia de residuos indeseables, tema que es tratado en el punto 18 de este mismo trabajo (Errecalde, 2000^a). Hemos insistido en la importancia de la calidad de elaboración y control de antimicrobianos para una terapéutica exitosa y la defensa de la salud pública, considerando que la implementación de procedimientos armonizados en el registro (tal como OIE viene trabajando en América a través del programa CAMEVET), buenas prácticas de manufactura (GMP) en la elaboración de medicamentos y buenas prácticas de laboratorio en el desarrollo y control de los mismos son esenciales y se debe seguir avanzando en ese sentido (Errecalde, 2003).

La terapéutica racional es un terreno dinámico, en que el avance del conocimiento va volviendo obsoletas las viejas recetas quimioterápicas. Clásicamente, se ha medicado con antibióticos siguiendo planes de administración o regímenes de dosificación, que permitían mantener concentraciones de droga en plasma y tejidos en forma continuada, durante un período suficiente para la total curación de la dolencia. La curación se obtiene por muerte bacteriana de una gran parte de la población y eliminación de los miembros sobrevivientes por activa participación del organismo. De allí que sea tan importante el estado de inmunocompetencia del paciente para la curación. Pacientes inmunodeprimidos necesitan especial cuidado, dado que los quimioterápicos, en este caso, actúan sin la ayuda de las defensas del organismo. Hay una serie de consideraciones importantes que hacer para la cabal comprensión de este tema.

a. La terapia por encima de la concentración inhibitoria mínima (CIM). La concentración inhibitoria mínima ha sido el indicador más utilizado, en terapia antimicrobiana, durante décadas. Se la define como la concentración más baja de droga que previene el crecimiento visible de microorganismos luego de entre 18 y 24 horas de cultivo. Es intuitivamente fácil de concebir que, si un antibiótico se mantiene en el organismo en concentraciones por encima de la CIM para determinada cepa de un microorganismo, será capaz de inhibir el desarrollo de esa bacteria con comodidad. Este concepto ha iluminado el avance de la ciencia durante mucho tiempo. Aunque últimamente, nuevos conceptos cambian las bases de algunos de los conocimientos que veníamos manejando, la CIM continúa siendo un parámetro fundamental, sin cuyo conocimiento no tendríamos posibilidades de éxito en terapia antibacteriana. Por su parte, la concentración bactericida mínima (CBM), representa la mínima concentración de antimicrobiano capaz de matar al 99,9 % de los microorganismos inoculados luego de entre 18

y 24 horas de cultivo. Determinados efectos perjudiciales para las bacterias persisten luego que la exposición del microorganismo al antimicrobiano ha terminado. Se llama a esto «efecto post-antibiótico». Aunque el efecto post-antibiótico fue observado hace ya muchos años (Eagle *et al*, 1950), más recientemente se descubrió que virtualmente todos los antimicrobianos lo producen en mayor o menor medida.

b. Curvas de muerte bacteriana y efectos persistentes de los antibacterianos. Los efectos antibacterianos pueden ser medidos «in vitro» y aún «in vivo» a través de la exposición de cultivos de microorganismos a diferentes concentraciones de antibióticos, tomando muestras a diferentes tiempos durante un período de 24 horas y determinando la cantidad de bacterias en cada muestra (Vogelman & Craig, 1986). En la Figura 2 se puede apreciar, a modo de ejemplo, una serie de curvas de muerte para una determinada bacteria puesta en contacto con un antibiótico al cual es susceptible a concentraciones iguales, menores y mayores que la CIM de ese antibiótico para esa cepa. Se han desarrollado interesantes modelos en rumiantes, en que suero, líquido tisular normal (obtenido de cajas tisulares) y líquido tisular con estímulo inflamatorio (obtenido de cajas titulares en las que se había inyectado un agente inflamatorio), fueron obtenidos a diferentes tiempos luego de la administración de enrofloxacin (una quinolona), para finalmente, inocular esas muestras con una determinada bacteria y determinar su capacidad de sobrevivir o no a las concentraciones de antimicrobiano presentes (Lees & Aliabadi, 2002).

Los efectos persistentes, conjuntamente con la capacidad de muerte bacteriana («killing»), han sido definidos como los mejores parámetros para establecer el óptimo plan de administración de un antimicrobiano (Andes & Craig, 1998). Entre estos parámetros podemos citar el efecto post-antibiótico (PAE), el efecto post-antibiótico sub-CIM (PASME) y el efecto post-antibiótico estimulador de leucocitos (PALE). El PAE es el tiempo necesario para que un cultivo bacteriano que estuvo en contacto con un antibiótico a concentraciones por encima de la CIM y que por lavado o dilución deja de estar en contacto con el antibiótico reinicie el crecimiento. El PAE es un parámetro fundamental, que se incrementa en función de: a) magnitud de la concentración de droga a que la bacteria fue sometida (hablamos de drogas concentración-dependientes), o b) tiempo durante el cual la bacteria estuvo en contacto con el microorganismo a concentraciones por encima de la CIM. Esta es una de las pautas que actualmente se utiliza para la clasificación de antibacterianos por sus efectos, como será visto más adelante. El PASME es mínima cantidad de antibacteriano (por debajo de la CIM) que puede afectar el crecimiento de los microorganismos. Este concepto se comenzó a gestar a partir de la demostración de Lorian (1980), de que concentraciones de antimicrobiano por debajo de la CIM pueden generar cambios estructurales y funcionales en las bacterias. El PALE es un efecto en el cual las bacterias son más susceptibles a la fagocitosis o a la muerte intracelular dentro de leucocitos, cuando se encuentran en la fase post-antibiótica (Odenholt-Tornqvist y cols, 1992). c) Parámetros farmacocinéticos. Desde hace tiempo que se tiene muy en claro la importancia del conocimiento de la farmacocinética de los medicamentos para

una terapia eficaz. El uso racional de los mismos se basa, en forma central, en el conocimiento de su farmacocinética, lo que, coordinado con el conocimiento de farmacodinamia y toxicidad, de las características del paciente y la enfermedad, permitirá una terapia óptima. El comportamiento farmacocinético de un determinado compuesto se caracteriza a través de una serie de parámetros. Entre los parámetros farmacocinéticos que más vinculación tienen con la eficacia antibacteriana, no podemos dejar de mencionar la biodisponibilidad, semivida de absorción, área bajo la curva concentración *versus* tiempo, concentración máxima obtenida en plasma y tiempo al que esa concentración se alcanza, semivida de eliminación y aclaramiento (clearance) desde plasma (en general a través de riñón). En la Tabla I se presentan algunos parámetros farmacocinéticos, su definición, abreviaturas y unidades de medida.

Tabla I: Parámetros farmacocinéticos, su definición, abreviatura y unidades de medida.

Parámetro	Definición	Abreviatura	Unidad de medida
Biodisponibilidad	Porción de la dosis administrada que alcanza el compartimiento central	F	$\mu\text{g o ng} \cdot \text{h} / \text{mL}$
Semivida de absorción	Tiempo en que se absorbe un 50% de la dosis administrada	T1/2ab	Minutos, horas o días
Area bajo la curva concentración versus tiempo	Suma de trapezoides y triángulos, cuyos lados son tiempos o concentraciones, ubicados por debajo de la curva concentración vs tiempo	AUC	$\mu\text{g o ng} \cdot \text{h} / \text{mL}$
Concentración máxima en plasma, suero, humor o tejido	La máxima concentración obtenida en el humor o tejido en que se midan las concentraciones de droga	Cmax	En general $\mu\text{g/mL}$ o ng/mL
Tiempo máximo	Tiempo al que se alcanza la máxima concentración en el humor o tejido en que se midan las concentraciones	Tmax	Minutos, horas o días
Semivida de eliminación	Tiempo en que se elimina un 50% de la concentración existente en plasma o el humor o tejido en que se determinen las concentraciones	T1/2 β	Minutos, horas o días
Clearance	Volumen de humor corporal (por ejemplo plasma) que es depurado de la droga estudiada por unidad de tiempo	CIB	mL/min, L/h, mL/h

d. Parámetros farmacocinético-farmacodinámicos. Algunos parámetros farmacocinéticos se pueden correlacionar con parámetros farmacodinámicos, a efectos de obtener predictores más robustos de eficacia terapéutica. En 1968, Wagner, propuso la utilización de la bien conocida ecuación de Hill para correlacionar la intensidad de efectos farmacológicos con las concentraciones de droga existentes en el organismo. El modelo de Wagner tiene fundamento teórico (Goldstein *et al*, 1974) y empírico (Ariens, 1964). Dahlstrom *et al*, (1978) y Sheiner y cols (1979) perfeccionan el modelo posteriormente. Un modelo farmacocinético simple, en comparación con un modelo farmacocinético-farmacodinámico simple también, se presentan en la Figura 2.

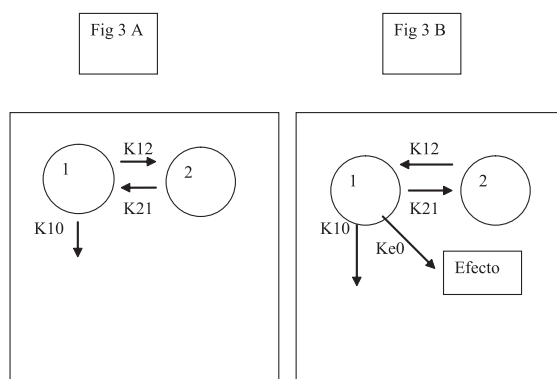


Figura 2: En la Figura 2 A se puede apreciar la representación esquemática de un modelo cinético de dos compartimentos, donde 1 y 2 son los compartimentos central y periférico respectivamente, K_{12} y K_{21} las microconstantes de intercambio entre los dos compartimentos y K_{10} la constante de tasa de eliminación del organismo. En 2 B, se observa lo mismo, pero con el agregado de un compartimento de efecto.

De la integración farmacocinética-farmacodinámica, surgen algunos parámetros que están resultando de gran utilidad en terapéutica antimicrobiana. Los parámetros más utilizados son: el área bajo la curva concentración tiempo dividida por la concentración inhibitoria mínima (AUC/CIM), la máxima concentración plasmática dividida por la CIM (C_{max}/CIM) y el tiempo en que la concentración del antibiótico excede la CIM ($T > CIM$). Estos parámetros son actualmente considerados como determinantes en la eficacia «in vivo» de los agentes antimicrobianos (Craig, 1998). Cada vez se dispone de más datos sobre experimentos «in vitro» y en modelos animales que corroboran la importancia de los parámetros farmacocinético-farmacodinámicos para diferentes antimicrobianos y su capacidad para permitirnos tratar efectivamente infecciones por gérmenes con susceptibilidades menores y prevenir la emergencia de resistencias (Craig, 2001). Los estudios en seres humanos son más limitados, pero herramientas nuevas o perfeccionadas, como los tiempos de muestreo optimizados y la farmacocinética poblacional, han mejorado la posibilidad de

estimar el grado de exposición a drogas en pacientes individuales. En la Figura 3 se puede ver una representación gráfica de estos parámetros. Estos parámetros no son más que el resultado de correlacionar una medida de exposición de la bacteria a la droga (C_{max} , AUC), frente a una medida de la potencia del antimicrobiano frente a la bacteria de interés (CIM).

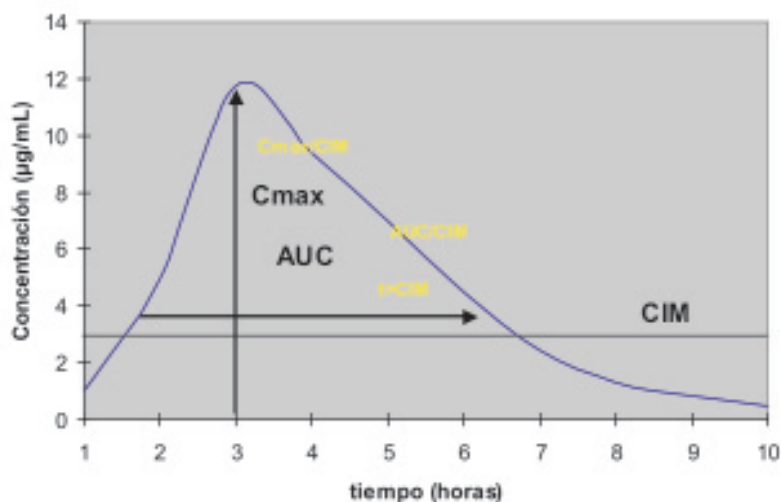


Figura 3: Se observan los parámetros farmacocinéticos concentración máxima (C_{max}), área bajo la curva concentración *versus* tiempo (AUC), el parámetro farmacodinámico concentración inhibitoria mínima para la cepa estudiada (CIM) y los parámetros farmacocinético-farmacodinámicos relación máxima concentración en plasma/concentración inhibitoria mínima (C_{max}/CIM), la relación área bajo la curva/concentración inhibitoria mínima (AUC/CIM) y el tiempo durante el cual las concentraciones de droga se encuentran por encima de la CIM ($t > CIM$).

e. Tipos de drogas antimicrobianas a la luz de los nuevos conocimientos. Se puede decir que hay tres tipos de drogas: a) aquellas que muestran una actividad fuertemente dependiente de la concentración, b) aquellas que no muestran esa dependencia y c) aquellas que son solamente bacteriostáticas (Vogelman & Craig, 1986). En la Tabla II se presentan algunos ejemplos de medicamentos con actividades encuadrables dentro de las mencionadas categorías. Obviamente, falta aún mucho trabajo para poder encuadrar a muchos antimicrobianos. Sin embargo, con los datos que se poseen, se pueden establecer regímenes de dosificación racionales, maximizando eficacia y minimizando los riesgos de emergencia de resistencias.

f. Utilización de los parámetros farmacocinético-farmacodinámicos para evitar la emergencia de resistencias. Es interesante mencionar que de los resultados

obtenidos en trabajos llevados a cabo en modelos animales y estudios clínicos en seres humanos, se concluye que la magnitud de los parámetros Pk/Pd no difieren mayormente cuando se salta entre especies. Esto no debería sorprendernos, ya que los receptores para los antimicrobianos se encuentran en la bacteria, que es la misma en humanos o animales. Hay datos que nos sugieren que la magnitud de los parámetros Pk/Pd son similares para diferentes regímenes de dosificación, para diferentes drogas dentro de la misma clase y en diferentes sitios de infección (Leggett *et al*, 1991). Es muy interesante que organismos con susceptibilidad reducida frente a penicilinas, macrólidos y fluoroquinolonas (por disminución de la afinidad a nivel del sitio de unión del antibiótico a la bacteria), necesitan el mismo valor del parámetro Pk/Pd que microorganismos susceptibles para ser completamente eficaces (Woodnut & Berry (1999), Andes & Craig (1999)).

En el caso de penicilinas y cefalosporinas, el tiempo en que las concentraciones plasmáticas deben estar por encima de la CIM en un intervalo interdosis es del 40-50 % para una eficacia por encima del 85 %. Para los macrólidos, ocurriría lo mismo (Craig, 2001).

Los aminoglucósidos, por su parte, son drogas cuya eficacia depende netamente de las concentraciones alcanzadas.

Tabla II: Clasificación de antimicrobianos en función de sus actividades relacionadas con las concentraciones que pueden alcanzar en los sistemas vivos.

Tipo de actividad **	Drogas	Persistencia	Parámetro de importancia	Referencia
Concentración dependiente	Aminoglucósidos Fluoroquinolonas	Prolongada	Cmax/CIM	Craig (1998) Craig y cols (1991)
Tiempo dependiente	Beta lactámicos Macrólidos* Clindamicina Linezolid	Mínima	T>CIM	Vogelman et al (1988) Leggett et al (1989)
Tiempo dependiente	Azitromicina Tetraciclinas* Glicopéptidos Quinupristina-dalfopristina	Prolongada	AUC/CIM	Craig (1997)

*Son medicamentos predominantemente bacteriostáticos.

**Estos tipos de actividad han sido recientemente clasificados por Andes & Craig (1998) como tipo I, II y III para las drogas de acción concentración dependientes, tiempo dependientes con mínima persistencia y tiempo dependientes con persistencia prolongada.

Uso de antimicrobianos como promotores del crecimiento

Desde hace tiempo se ha instalado una discusión internacional sobre la conveniencia y la factibilidad de dejar de utilizar antibióticos con fines de promoción del crecimiento. Estos medicamentos son utilizados en dosificaciones bajas, subterapéuticas, en alimentos animales, a los efectos de mejorar la calidad del producto final (una menor proporción de grasa y una mayor proporción de proteínas). Otro beneficio de la utilización de estas drogas en la dieta es el control de patógenos zoonóticos, como *Salmonella*, *Campylobacter*, *E. coli* y enterococos. Por otra parte, hay quienes argumentan que la utilización de cualquier antibiótico en estas condiciones favorece la selección de resistencia en bacterias patógenas limitando, en consecuencia, su utilización en casos clínicos.

Muchas han sido las teorías que tratan de explicar el efecto de los antibióticos como promotores del crecimiento. Lo que es indudable es que su efecto está vinculado a la intensificación de la explotación productiva. Se ha pensado en que estos medicamentos pueden suprimir parte de la población bacteriana intestinal que pueden llegar a consumir hasta un 6% de la energía neta en cerdos (Jensen, 1998). Controlando la población bacteriana, probablemente la pérdida energética sea menor. Thomke & Elwinger (1998), sugieren que las citocinas liberadas durante el proceso inmune estimulan la liberación de hormonas catabólicas que reducirían la masa muscular. Obviamente, una reducción de las infecciones intestinales actuaría en contrario. El efecto de los antimicrobianos sobre bacterias anaerobias puede ser otra explicación (los anaerobios son raramente buscados), esto podría prevenir enfermedades como las enteritis necrotizantes e incluso, al suprimir bacterias capaces de producir exotoxinas, evitar los efectos de éstas.

Independientemente de la teoría que se quiera utilizar, parece innegable que el resultado de la utilización de promotores del crecimiento redundará en aumentos diarios de peso en el rango de 1 a 10 % con carnes de mejor calidad.

El que se trate de un tema tan conflictivo, explica, de alguna manera, las diferencias en la utilización de este tipo de drogas en áreas desarrolladas del mundo, así podemos ver, en la Tabla III cuales son las drogas que se han utilizado en la Unión Europea y se han ido prohibiendo paulatinamente y en la Tabla IV cuales son las drogas que se utilizan en los EEUU. Este es un ejemplo extremo de diferencias entre países desarrollados. Mientras, por un lado, los EEUU utilizan extensivamente una gran cantidad de antimicrobianos como promotores del crecimiento (algunos considerados de importancia en clínica humana), por el otro, Suecia, no utiliza actualmente antibióticos con los mismos propósitos. En 1995 el Parlamento sueco prohibió la utilización de antibióticos con fines de promoción del crecimiento. Si bien con un costo en pérdidas productivas importantes, y con mayores costos en instalaciones y manejo, Suecia ha demostrado que se puede producir carne en forma moderna sin utilizar promotores del crecimiento antibacterianos. El Animal Health Institute of America (AHI, 1998), por su parte, considera que, sin la utilización de antimicrobianos como promotores del crecimiento, los EEUU necesitarían 452 millones de pollos, 23 millones de

Tabla III: Promotores del crecimiento en Europa.

Antibacteriano	Prohibido desde	Clase
Bambermicina		Glicopéptido
Bacitracina	1999	Péptido
Monensina		Ionóforo
Salinomicina		Ionóforo
Virginiamicina	1999	Estreptogramina
Tilosina	1999	Macrólido
Espiramicina	1999	Macrólido
Avilamicina		Glucopéptido
Avoparcina	1997	Glucopéptido
Olaquinox	1999	Quinoxalina
Carbadox	1999	Quinoxalina

Tabla IV: Promotores del crecimiento utilizados en EEUU clasificados por especie animal.

Bovinos	Cerdos	Aves
Bacitracina	Bacitracina	Bambermicina
Clortetraciclina	Bambermicina	Bacitracina
Lasalocid	Clortetraciclina	Clortetraciclina
Monensina	Eritromicina	Penicilina
Oxitetraciclina	Penicilina	Tilosina
	Tiamulina	Virginiamicina
	Tilosina	
	Virginiamicina	

bovinos y 12 millones de cerdos extra, para alcanzar los niveles de producción que se alcanzan con las prácticas actuales. En el resto de la Unión Europea, en que el uso de antimicrobianos como promotores del crecimiento es más limitado, pero continúa en vigencia, la mortalidad como consecuencia de alteraciones intestinales está en un 10-15 % por debajo que en países como Suecia, que no los utiliza. A esto hay que agregar diferencias en ganancias de peso y calidad de carnes.

En párrafos anteriores mencionamos la experiencia llevada cabo en Dinamarca, en que se suspendió la utilización de antimicrobianos para la promoción del crecimiento en cerdos y aves. La conclusión de ese documento fue que, en condiciones similares a las de Dinamarca, el uso de antimicrobianos con el único propósito de promoción del crecimiento podría ser discontinuado, sin demasiados complicados efectos colaterales. Aquí debemos remarcar las palabras «en condiciones similares a las de Dinamarca», dado que esas condiciones son, en realidad bastante difíciles de cumplimentar, especialmente en los países del tercer mundo.

Las medidas profilácticas implementadas en Dinamarca, permitieron que el programa fuera exitoso con pérdidas mínimas en producción porcina y

prácticamente sin pérdidas en explotaciones avícolas. Las pérdidas, según el informe serían completamente compensadas por el aumento de confianza del consumidor en los productos producidos bajo el nuevo sistema y por el valor agregado de las exportaciones danesas. Los expertos concluyen que la experiencia danesa es extrapolable a otros países en similares condiciones de desarrollo agropecuario. Esto significa: elevada intensidad, bioseguridad, alojamiento cerrado y muy elevado estándar sanitario.

Es extremadamente discutible la última conclusión del trabajo, en que asegura que: «a la vista de los resultados obtenidos en Dinamarca, es poco probable que una acción similar en países en desarrollo pueda disminuir la producción total de carne». Nosotros pensamos que, desde el punto de vista sanitario, muchas explotaciones tercermundistas no están en condiciones mínimas de resistir un proyecto como el mencionado.

Por otra parte, parece lógico pensar que debemos luchar contra las resistencias bacterianas con las armas más adecuadas, pero que esa lucha no debería basarse en una pérdida de productividad en regiones del globo en que cada gramo de alimento es esencial para paliar el hambre.

Por lo tanto, en las actuales condiciones, deberá dedicarse mucho al desarrollo económico, técnico y cultural de ciertas partes del globo, antes de pretender enrostrarlos en programas de mejoramiento de la calidad alimentaria que obedezcan a políticas de mejora de la salud pública global.

Alternativas al uso de promotores del crecimiento

Cuando se considera la prohibición del uso de antimicrobianos como promotores del crecimiento, se debería considerar paralelamente cuales son las posibles medidas a tomar como alternativas.

Una alternativa lógica sería la de desarrollar drogas con mecanismos de acción similares, lo que no sería más que el descubrimiento de nuevos antimicrobianos con mecanismos de acción diferentes de los críticamente importantes en clínica médica humana. Una ruta más compleja sería el mejoramiento de la sanidad animal. Esto es algo elemental. Fue descrito por Prescott y Bagot (1993), que los promotores del crecimiento funcionan mejor cuanto peores sean las condiciones sanitarias. Pero el mejoramiento de la salud animal no es algo fácil de conseguir, especialmente cuando las condiciones económicas y sanitarias generales correspondientes al país no se condicen con ello.

Una de las alternativas que se manejan corrientemente son las enzimas, que adicionadas a las dietas de pollos y cerdos, mejoran el nivel de digestión de ciertos componentes, incrementado sustancialmente el nivel de aprovechamiento de los nutrientes.

Los probióticos están siendo utilizados de manera variable desde hace tiempo ya. Los probióticos son microorganismos que se incluyen en la dieta o son administrados por otras vías. Consisten en microorganismos o mezclas de

los mismos que se comportan de manera «amistosa» con el organismo. Sus mecanismos de acción están en discusión, pero, resumidamente se podría decir que podrían seguir una o más de las siguientes acciones: a) Actuar en función del principio de exclusión competitiva, en que una bacteria a grupo de ellas coloniza el intestino de un paciente, con lo que evita que un patógeno pueda ocupar lo que ya está ocupado. b) Actuar estimulando el sistema inmune del paciente. c) Actuar influenciando el metabolismo intestinal, haciéndolo más eficiente.

Pese a sus teóricas ventajas y a varias demostraciones de eficacia, la actividad de los probióticos sigue generando dudas en la comunidad científica. Entre los hechos favorables, se puede citar que calostros fermentados pueden inhibir el desarrollo de tumores en ratones (Shahani *et al* 1983). Por su parte, Kato *et al* (1985) confirmaron que *Lactobacillus casei* es capaz de inhibir el desarrollo de tumores. Sin embargo, Sharpe *et al* (1973) comunicaron que *Lactobacillus casei rhamosus* puede producir endocarditis y abscesos en animales. Una de las dudas más grandes que actualmente persisten respecto de la utilización de probióticos, son los riesgos potenciales involucrados en la transferencia de resistencia antibiótica y factores de virulencia crípticos.

Las medidas de manejo que se puedan implementar siempre repercutirán favorablemente en la productividad. En Australia se ha trabajado sobre el sistema llamado «todo adentro, todo afuera», lo que significa que cuando se establece un movimiento en la granja, este es total y no quedan animales en la misma, evitando infecciones cruzadas. Si bien esto es generalmente aplicado en explotaciones avícolas, en explotaciones porcinas se trata de algo más complicado y novedoso, que seguramente una vez implementado generará beneficios.

Los planes de vacunación, por su parte, tampoco pueden ser discutidos y, más allá de los costos involucrados, sus resultados suelen ser satisfactorios.

Sin embargo, pareciera que, por el momento, no aparece una opción realista para suplantar a los antibacterianos como promotores del crecimiento.

El futuro

A efectos de que podamos seguir utilizando los antimicrobianos con el éxito con que lo hemos venido haciendo hasta ahora, se torna imprescindible que lo hagamos en forma prudente y racional. Eso implica que los encargados de realizar las terapias deban tener los conocimientos elementales para poder llevar a cabo tratamientos que lleguen al éxito terapéutico evitando la emergencia y diseminación de resistencias bacterianas. Con diagnósticos certeros, apoyados en laboratorios eficaces y modernos, técnicos entrenados en las bases farmacocinético-farmacodinámicas, serán capaces, seguramente, de seguir sacando el mayor provecho de este grupo de drogas, manteniendo su eficacia en el tiempo.

REFERENCIAS

- Acar JF, O'Brien T, Goldstein F, Jones R. (1993). The epidemiology of bacterial resistance to quinolones. *Drugs*. 14 suppl. 3:24-28.
- Animal Health Institute (USA). (1998). Antibiotics resistance back in the news. *AHI Quarterly*, 19: 1-4.
- Andes D, Craig W. (1998). In vitro activities of amoxicillin and amoxicillin-clavulanate against *Streptococcus pneumoniae*: application to breakpoint determination. *Antimicrob. Agents Chemother.* 42:2375-2379.
- Ariens E.J. (1964). The mode of action of biologically active compounds. In: Stevens G.D. Ed: *Molecular Pharmacology*. New York. Academic Press. Pp. 136-148.
- Craig W, Redington J & Ebert S. (1991). Pharmacodynamics of amikacin in vitro and in mouse thigh and lung infection. *J. Antimicrob. Chemother.* 27(Suppl. C):29-40.
- Craig W. (1997). Postantibiotic effects and the dosing of macrólidos, azalides and streptogramins. In: Zinner S, Young L, Acar J, Neu H, Editors. *Expanding indications for the new macrolides, azalides and streptogramins*. New York, Marcel Dekker. Pp27-38.
- Craig W. (1998). Pharmacokinetic-pharmacodynamic parameters: rationale for antibiotic use in mice and men. *Clin. Infect. Dis.* 26:1-12.
- Craig W. (2001). Does the Dose Matter? *Clin. Infect. Dis.* 33(Suppl. 3):S233-237.
- Dahlstrom B, Paalzow L, Segre G et al. (1978). Relationship between morphine pharmacokinetics and analgesia. *J. Pharmacokinet. Biopharm.* 6:41-53.
- Davies J. (1994). Origin, acquisition and dissemination of resistance genes. *Science* 264:375-382.
- Eagle H, Fleischman R, Musselman A. (1950). Effect of schedule of administration on the therapeutic efficacy of penicillin. *Am. J. Med.* 9:280.
- Errecalde J. (1988). Bioequivalencia, Ensayos de Fármacos «in vitro» e «in vivo». *Boletín del Centro de Estudios para el Desarrollo de la Industria Químico-Farmacéutica Argentina.* (29):5-10.
- Errecalde J. (1994a). Documento sobre productos genéricos. *Boletín Técnico. Pfizer, Sanidad Animal. Buenos Aires, Argentina.* (176):1-6.
- Errecalde J. (1994b). El uso racional de los antimicrobianos en explotaciones lecheras. *Jornadas de Actualización en Lechería. Lincoln, Buenos Aires, Argentina.*
- Errecalde J. (1995). Documento sobre productos genéricos (II Parte). *Boletín Técnico. Pfizer Sanidad Animal. Buenos Aires. Argentina.* (180):1-5.
- Errecalde J. (1996). Antimicrobianos en leche: Su importancia en Salud Pública. *Boehringer Ingelheim S.A. Buenos Aires, Argentina.*

- Errecalde J. (2000a). El control de puntos críticos en el tambo: Una alternativa viable en nuestro medio? Segundo Curso de Actualización Profesional Fisiopatología de la Lactancia y Calidad de Leche. Universidad Nacional de La Plata, INTA y CREA. Pp 99-105.
- Errecalde J. (2000b). Uso racional de antibióticos en explotaciones lecheras. Jornada de Antibióticos en Leche. Nueva Helvecia. Uruguay. Pp. 73-79.
- Errecalde J. (2001). Relation drug-host-ectoparasite. Workshop: Relationship between pharmacokinetics and anthelmintic efficacy of endectocides. XVIII Congress WAAVP, Stresa, Italy. Pp 181-182.
- Errecalde J. (2003). La elección del medicamento de calidad. Libro de resúmenes de las XIV Jornadas Ganaderas de Pergamino, Buenos Aires. Argentina. Pp. 72-76.
- Goldstein A, Aronow L & Kalman S. (1974). Principles of Drug Action. Second Ed. John Wiley and Sons Eds. Pp. 82-110.
- Hall R. (1997). Mobile gene cassettes and integrons: moving antibiotic genes in Gram negative bacteria. Ciba Foundation Symposium. 207:192-205.
- Jensen B. (1998). The impact of feed additives on the microbial ecology of the gut in young pigs. J. Anim. and Feed Sci. 7:45-64, Suppl. 1.
- Kato I, Yokokura T & Nutai M. (1985). Induction of tumoricidal peritoneal exudates cells by administration of Lactobacillus casei. International Journal of Immunopharmacology. 7:103-109.
- Lees P, Aliabadi P (2001). Rational dosage of antimicrobial drugs. Int J. Antimicrob. Agents. 19:269-284.
- Leggett J, Fantin B, Ebert S. (1989). Comparative antibiotic dose-effect at several dosing intervals in murine pneumonia and thigh infection models. J. Infect. Dis. 159:281-292.
- Leggett J, Ebert S, Fantin B & Craig W. (1991). Comparative dose-effect relationship at several dosing intervals for beta-lactams, aminoglycoside and quinolone antibiotics against Gram negative bacilli in murine thigh infection and pneumonitis models. Scand. J. Infect. Dis. (Suppl. 74):179-184.
- Lorian V. (1980). Effects of subminimum inhibitory concentrations of antibiotics on bacteria. In: Lorian Ed. Antibiotics in Laboratory Medicine. Baltimore: Williams and Wilkins. Pp. 342-408.
- Mestorino ON. (2001). Control de residuos químicos en animales productores de leche. Primeras Jornadas Técnicas de Ciencia y tecnología de Carnes y Alimentos. Montevideo, Uruguay.
- Odenholt-Tornqvist I, Lowdin E, Cars O. (1992). Post-antibiotic sub-MIC effects of vancomycin, roxithromycin, sparfloxacin and amikacina. Antimicrob. Agents Chemother. 36:1852-1858.

Prescott J, Baggot J & Walker R (2002). *Terapéutica Antimicrobiana en Medicina Veterinaria*. Tercera Edición. Intermédica. Buenos Aires.

Sharpe M, Hill R & Papage S. (1973). Pathogenic lactobacilli. *Journal of Medical Microbiology*. 6:281-286. *Epidemiology and control*. *Infect. Dis. Clinics of North America*. 10:939-957.

Shahani K, Friend B & Bailey P. (1983). Antitumour activity of fermented colostrums and milk. *Journal of Food Protection*, 46:385-386.

Sheiner L, Stanski D, Vozech S, Niller R, Ham J. (1979). Simultaneous modeling of pharmacokinetics and pharmacodynamics: Application to d-tubocurarine. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*. 25(3):358-371.

Tomke S & Elwinger K (1998). Growth promotants in feeding pigs and poultry II: Mode of action of growth promotants. *Annales de Zootechnie*, 47:153-167.

Vogelman B & Craig W. (1986). Kinetics of antimicrobial activity. *The Journal of Pediatrics*. 108(2):835-840.

Woodnut G & Berry V. (1999). Two pharmacodynamic models for assessing the efficacy of amoxicillin-clavulanate against experimental respiratory tract infections caused by strains of *Streptococcus pneumoniae*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 43:29-34.