

## **APORTES AL CONOCIMIENTO DE LA TERAPIA ANTIBIÓTICA RACIONAL EN PRODUCCIÓN PORCINA**

**Prof. Alejandro L. Soraci**

**Méd Vet.; Dr. Cs.; Vet. Ph.D**

**Invest. Indep. CONICET**

**Área Toxicología**

**FCV-UNCPBA**

El éxito clínico de una terapia anti-infecciosa depende de una compleja y adecuada interrelación entre el destino del antibiótico en el organismo (PK) y su relación con la bacteria en cuestión (PD). Ello es definido en la nomenclatura moderna como vínculo o relación PK/PD y constituye la base racional para el uso de antimicrobianos en cualquier especie animal, incluido el hombre. El uso racional de un antimicrobiano sustentado sobre bases PK/PD, no es simple de lograr en la práctica clínica-productiva porcina, particularmente porque se maneja en forma conjunta un importante número de animales bajo diferentes situaciones fisiológico-productivas y de «estrés de granja» (Soraci 2010 a). Estas variables impactan en el logro de una óptima exposición antibiótico-bacteria, en la eficacia terapéutica y son potencial de selección de bacterias resistentes. La antibioticoterapia en producción porcina intensiva se prescribe bajo las modalidades terapéutica o metafiláctica. Ello implica la administración individual, generalmente vía parenteral (como tratamiento terapéutico), y/o poblacional (como tratamiento curativo- metafiláctico), mediante la incorporación posológica oral de la formulación antibiótica en el alimento o en el agua de bebida. La administración antibiótica individual por vía inyectable (parenteral) asegura, en principio, una dosis en función de kg de peso vivo, mientras que su llegada al sitio de acción (biofase) y su efecto antibacteriano dependerá, entre otros, de las características PK/PD de la formulación antibiótica administrada.

El alimento y el agua de bebida representan los principales medios biológicos para vehicular la administración de un antibiótico por la vía oral. Ello permite tratar un gran número de animales infectados y/o aquellos que potencialmente puedan contraer la infección, disminuyendo el manejo de los mismos, sin infligir estrés. Esta modalidad posológica se sustenta sobre un principio o enunciado, por el cual todos los animales de un grupo a tratar consumirán, en función del momento productivo en que se encuentren, una misma cantidad de ración o agua y por ende el antibiótico incorporado en dichas matrices, será administrado equitativamente a todos los animales. El éxito curativo-metafiláctico de dicha estrategia depende de varios factores, resaltando como centrales el consumo voluntario de alimento-agua y el comportamiento social del cerdo. Este último factor impacta fuertemente sobre el bienestar del animal, provocando cambios en el control fisiológico del consumo de alimentos-agua y en consecuencia, en los principios activos antibióticos incorporados a los mismos. Por lo tanto, es fácilmente deducible que cualquier situación que

afecte al consumo voluntario de alimento-agua será objeto de variaciones en las concentraciones plasmáticas de los animales tratados, modificando la ideal interrelación PK/PD del antimicrobiano.

En función de lo expuesto precedentemente, se estudió el comportamiento del antibiótico fosfomicina (modelo de antibiótico hidrosoluble, de amplio espectro, elegido en función de su intensivo uso en esta producción) en el cerdo, abarcando las diferentes situaciones fisiológico productivas: cerdas durante el parto y lactancia, lechones lactantes, lechones de destete, cerdos en crecimiento-desarrollo-terminación.

### **Estudio del comportamiento de las concentraciones calostrales-lácteas de fosfomicina luego de la administración intramuscular (IM), en cerdas en el estadio del ciclo productivo de parto-lactancia.**

Una de las prácticas habituales y poco racionales realizadas en granjas comerciales de cerdos, es la administración «profiláctica» de antimicrobianos vía sistémica, particularmente vía intramuscular (IM), a la cerda en el día/s previos al parto. La argumentación de dicha práctica es «*diminuir la carga bacteriana*» a la cual van a ser expuestos los lechones al nacimiento. Más allá de predisponer al desarrollo de resistencia bacteriana, en dicha práctica no se ha dimensionado la importancia del pasaje de concentraciones antibióticas a calostro y/o leche y el potencial impacto sobre el equilibrio y la salud intestinal del lechón lactante. Dado que la leche de cerda no es una matriz biológica destinada al consumo humano en forma directa o indirecta a través de subproductos, existen muy pocos trabajos científicos en la bibliografía internacional sobre la distribución calostrál-láctea de antimicrobianos, como la disponible en bovinos de leche, ovinos y caprinos (Mestorino et al., 1993, Mestorino et al., 2009, Lucas et al., 2010). Por tanto, el presente trabajo tuvo como objetivo estudiar las concentraciones del antibiótico fosfomicina en calostro-leche, luego de la administración intramuscular (IM) a cerdas durante el período de peri-parto y estimar su potencial impacto sobre la salud y equilibrio intestinal del lechón lactante.

La administración intramuscular de fosfomicina a razón de 15 mg/kg en cerdas en el estadio del ciclo productivo de parto-lactancia mostró una correspondencia entre las características fisicoquímicas del antibiótico, principalmente su hidrosolubilidad y la dinámica calostrál, fuertemente asociada a cambios hormonales y/o morfo-fisiológicos de la glándula mamaria (Farmer 2001; Cregan y Hartmann, 1999; Fleishaker, 2003; Pons y Rey, 2003; Le Dividich et al., 2004; Lee, 2007), responsables de un progresivo cierre de las uniones estrechas entre las células epiteliales mamarias durante las primeras horas post parto (Falconer, 1980; Farmer, 2001; Devillers et al 2005; Le Dividich et al., 2004). Dichos cambios, serían los responsables de la disminución de la penetración de fosfomicina en este fluido, no encontrando concentraciones cuantificables de fosfomicina en ninguna cerda sometida a tratamiento (n:9) a las 12 h post primer nacimiento (ver fig 1.)

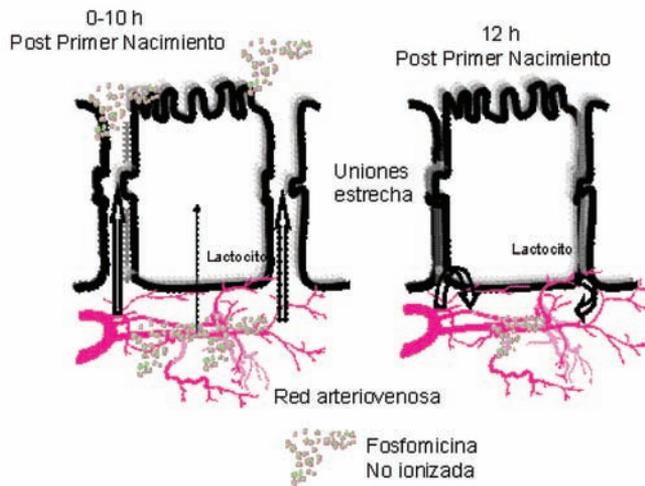


Fig 1. Representación esquemática del pasaje de fosfomicina a calostro

La cinética de distribución del antibiótico a calostro exhibió un rango de concentraciones de  $1,60 \pm 0,89$  a  $0,34 \pm 0,16$   $\mu\text{g/ml}$ , entre el inicio del parto y 10 h posteriores al primer nacimiento de la camada respectivamente (fig 2)

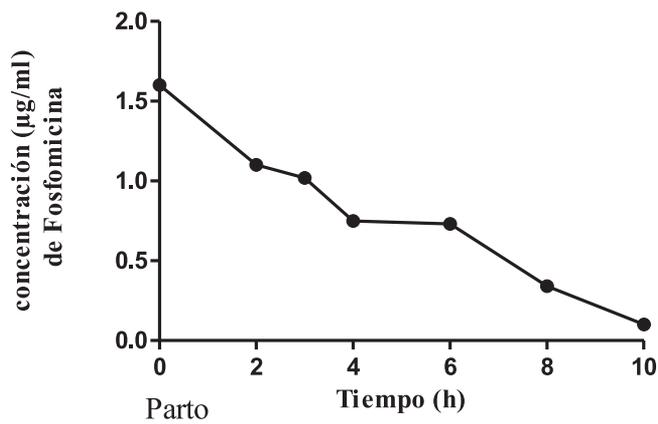


Fig. 2: Evolución del perfil calostroal de fosfomicina en cerdas

El porcentaje promedio de dosis de fosfomicina eliminada por calostro fue de 1,8 %. En función de las concentraciones de fosfomicina calostrales obtenidas y el consumo de calostro/lechón lactante calculado (294,2 g/kg PV) se determinó la dosis promedio ingerida del antibiótico/lactante de 0,27 mg/kg, equivalente a 1,35 % de una dosis terapéutica oral. Además, el orden de nacimiento mostró diferentes niveles de exposición calostrala al antibiótico factibles de inducir desequilibrios sobre una microbiota incipiente en fase de colonización gastrointestinal en lactante. Por otro lado, la excreción de antibióticos y/o sus metabolitos activos ejercen una presión de selección sobre la flora bacteriana comensal, generando un «reservorio» de genes codificadores de resistencia que pasan de bacteria en bacteria, pudiendo eventualmente alcanzar la población humana y generar un verdadero riesgo para la salud pública (Gremmo-Féger et al., 2003; Damase-Michel et al., 2004).

### **Estudio de la disposición plasmática y biodisponibilidad de fosfomicina luego de la administración intramuscular (IM), en lechones en el estadio del ciclo productivo de post destete.**

El estudio de la disposición plasmática y biodisponibilidad de fosfomicina disódica luego de la administración intramuscular (15 mg/kg), en lechones en el estadio del ciclo productivo de post destete, es de crucial importancia ya que es considerado un período crítico de estrés en la etapa del lechón, los que lo hace susceptibles a diversas infecciones. Las muestras de sangre fueron obtenidas mediante la colocación de un catéter permanente en la vena yugular externa en todos los cerdos en estudio. Dicha técnica nos permitió tomar muestras seriales de sangre sin infligir estrés adicional en estos animales altamente sensibles (Soraci et al., 2010 b ).Las concentraciones plasmáticas de fosfomicina fueron analizadas por metodología HPLC MS/MS previa puesta a punto y validación (Soraci et al 2011 a y b). La biodisponibilidad IM de fosfomicina obtenida fue elevada (85,5%) y caracterizada por una rápida absorción ( $T_{max}$ :0,75 h) y un pico plasmático máximo ( $C_{max}$ ) de  $43 \pm 4,1 \mu\text{g/ml}$ . (Fig 3) Concentración  $\mu\text{g/ml}$

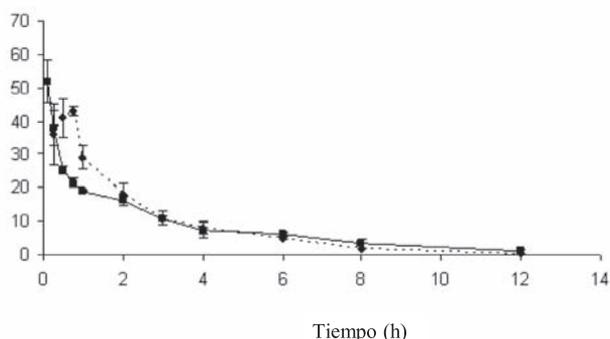


Fig 3. Media  $\pm$  1 D.E de los perfiles de las concentraciones plasmáticas obtenidos luego de la administración intravenosa (- IV) (n=6) e intramuscular (• IM) (n=6) de 15 mg/kg en lechones de destete.

Este comportamiento marca una diferencia de absorción con respecto al cerdo adulto, relacionada con un elevado contenido de agua en el intersticio muscular del animal recién destetado, situación que favorece la absorción de compuestos hidrosolubles (Nouws,1992). El lechón de destete posee más del 65,7% de agua tisular, la cual disminuye a < 53% en un cerdo de 90 kg (Shields et al., 1983; Georgievskii, 1982). Los cambios corporales más importantes que se producen en relación a la edad de los cerdos son una disminución del agua corporal total, un aumento del tejido adiposo y un aumento en la masa ósea (Nouws, 1992). La importante composición acuosa del músculo en los lechones al destete (25-28 días de edad los animales) facilita la disolución de las drogas hidrosolubles, como fosfomicina, en el intersticio muscular, exponiendo a la droga a una mayor superficie de absorción (Nouws, 1992) Un clearance corporal ( $CL_B$ ) rápido ( $131,50 \pm 30,07$  ml/kg/h), una moderada a baja distribución ( $Vd_{area}$ :  $273 \pm 40.7$  ml/kg) (Baggot, 1977) y valores de vida media corta fueron observados para fosfomicina luego de la administración IV ( $T_{1/2}$ :  $1,54 \pm 0,40$ ) e intramuscular ( $T_{1/2}$ :  $1,85 \pm 0,19$  h) (Soraci 2011 b) (Ver tabla I).

Parámetros	IV	IM
$T_{1/2}$ (h)	$1.54 \pm 0.40$	$1.85 \pm 0.19$
AUC <sub>(0-12)</sub> ( $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{ml}$ )	$120.00 \pm 23.12$	$99.00 \pm 0.70$
MRT (area) (h)	$3.50 \pm 0.44$	-
Vd (ml/kg)	$273.00 \pm 40.70$	-
CL (ml/kg/hr)	$131.50 \pm 30.07$	-
$C_{max}$ ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )		$43.00 \pm 4.10$
$T_{max}$ (h)		$0.75 \pm 0.00$
F(%)		$85.5 \pm 9.90$

Tabla I. Parámetros farmacocinéticos de fosfomicina obtenidos luego de la administración intravenosa (IV) e intramuscular (IM) a razón de 15 mg/kg en lechones de destete

$T_{1/2}$ : vida media plasmática

AUC: Área bajo la curva concentración tiempo

**MRT: Tiempo medio de residencia**

Vd: Volumen de distribución

CL: Clearance

$C_{max}$ : Concentración máxima obtenida luego de la administración IM

La fosfomicina es considerada un antimicrobiano «tiempo dependiente» (% T > MIC) (McKellar et al., 2004; Sumano et al., 2007; Gutierrez et al., 2009; Popovic et al., 2010). Se acepta que para algunos antibióticos tiempo dependientes el área bajo la curva concentración- tiempo, dividido por la concentración inhibitoria mínima  $CIM_{90}$  ( $AUC_{0-24}/CIM_{90}$ ) es la relación farmacocinética/farmacodinámica (PK/PD) utilizada como predictor de eficacia clínica (Toutain et al., 2002, 2007). Así, la relación  $AUC_{0-24}/CIM_{90}$  documentada como predictor de eficacia para los macrólidos y las tetraciclinas es  $\geq 25$  (Toutain et al., 2002; Zozaya et al., 2008). En terapia antibiótica del cerdo, ningún valor de relación  $AUC_{0-12}/CIM_{90}$  ha sido sugerido para la fosfomicina. El área bajo la curva concentración-tiempo ( $AUC_{0-12}$ ) para fosfomicina, obtenida en este estudio luego de la administración IM fue  $99.00 \pm 0.70 \mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{ml}$ . Si consideramos que diferentes autores han establecido para fosfomicina, en bacterias de importancia clínica en producción porcina, valores de  $CIM_{90}$ , en el rango de 0,25 a 0,5  $\mu\text{g}/\text{ml}$  para *Streptococcus sp.* y *E. coli*, respectivamente (Zozaya et al., 2008), los valores de las relaciones  $AUC_{0-12}/CIM_{90}$  obtenidos en este estudio serían de 396 para *Streptococcus sp.* y 198 para *E. coli*. Por lo tanto, dichos valores calculados son ampliamente superiores al valor predictor de  $\geq 25$ , como para sugerir una aceptable eficacia *in vivo* frente a esas bacterias sensibles en lechones al destete. En base a su potencial eficacia clínica y su comportamiento farmacocinético, la fosfomicina disódica representa una buena opción terapéutica, frente a bacterias sensibles, luego de su administración intramuscular a razón de 15 mg/kg en lechones de destete.

#### **Estudio de la penetración pulmonar (fluido de revestimiento epitelial, FRE) de fosfomicina luego de la administración intramuscular (IM), en lechones en el estadio del ciclo productivo de post destete**

Relacionado con la fase productiva del destete, las enfermedades respiratorias, debido a su elevada morbilidad y mortalidad, representan una de las entidades clínicas más importantes durante esta etapa. Una elemental precondition para que un antibiótico sea clínicamente eficiente es que el mismo alcance concentraciones efectivas para el patógeno involucrado (concentraciones por encima de la concentración inhibitoria mínima, CIM) en el sitio infección o biofase. Por dicha razón, se estudió la penetración pulmonar (fluido de revestimiento epitelial, FRE) de fosfomicina luego de la administración intramuscular (IM), en lechones de post destete.

Luego de la administración IM se realizaron, a tiempos previamente establecidos, lavados bronqueo alveolares (LBA en lóbulo craneal) mediante endoscopia (Fig 4)

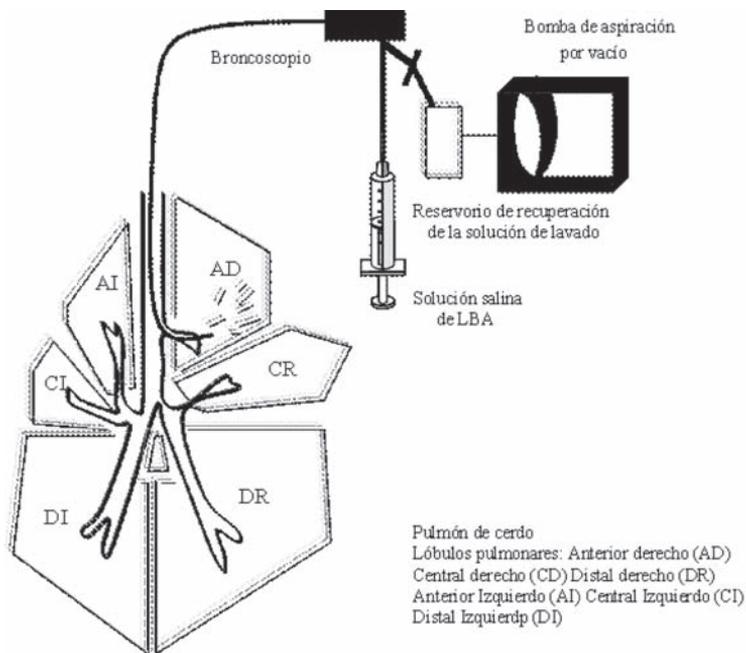


Fig 4. Esquema del sistema de lavado bronqueo alveolar empleado

La estimación del volumen de FRE ( $V_{FRE}$ ) fue calculada de acuerdo a la siguiente fórmula:  $V_{FRE} = V_{LBA} \times (Urea_{LBA} / Urea_{Suero})$

Donde:

$V_{LBA}$ : Volumen de LBA aspirado  
 $Urea_{LBA}$ : Concentración de urea en el LBA  
 $Urea_{Suero}$ : Concentración de urea en suero

La concentración de fosfomicina en FRE ( $Fosfomicina_{FRE}$ ) fue determinada por la siguiente fórmula:  $Fosfomicina_{FRE} = Fosfomicina_{LBA} \times (Urea_{Suero} / Urea_{LBA})$

Donde:

$Fosfomicina_{LBA}$ : Concentración de fosfomicina en LBA  
 $Urea_{Suero}$ : Concentración de urea en suero  
 $Urea_{BAL}$ : Concentración de urea en LBA

Si bien el pulmón del cerdo posee un alto grado de segmentación y en consecuencia el LBA no es representativo del pulmón en su totalidad, el lavaje del lóbulo craneal es sumamente importante dado que dicho lóbulo es el más afectado por patógenos respiratorios en esta especie. Las concentraciones de fosfomicina halladas en FRE representaron un 12,1 % de las encontradas en

suelo. La barrera anatómica sangre-alveolo, las células epiteliales en estrecha relación de unión (*zonulae occludens*) y el grado de ionización de fosfomicina (Pka 6.5) a pH plasmático restringirían el transporte de este antibiótico al FRE . El comportamiento de distribución de un fármaco en tejidos es generalmente descrito a través de su AUC, puesto que dicho parámetro considera las variaciones de concentración en función del tiempo. La relación de ambos parámetros fue determinada como  $AUC_{FRE}/AUC_{suelo}$  y su valor promedio calculado fue de  $0,15 \pm 0,02$ . La  $C_{max}$  en suero y en FRE fueron de  $45,00 \pm 2,5$  1 y  $3,10 \pm 0,95$  respectivamente. Estas concentraciones se alcanzan a diferentes tiempos ( $T_{max}$  en suero y en FRE:  $1.00 \pm 0.00$  y  $2.58 \pm 0.49$  h, respectivamente (ver fig 5 y tabla II).

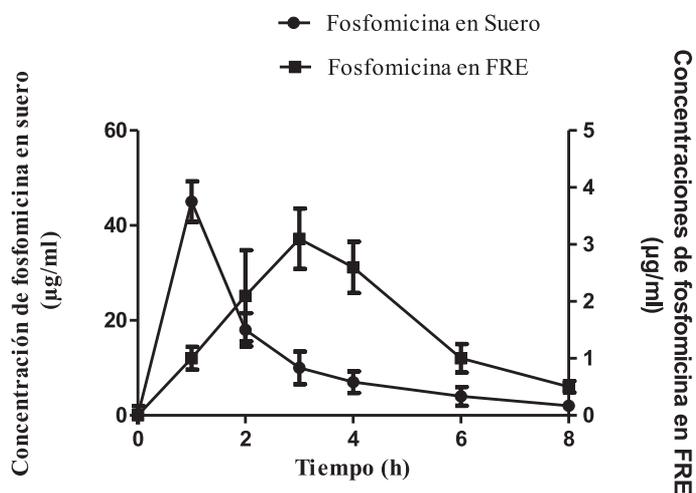


Fig 5. Concentraciones de fosfomicina (media  $\pm$  1 DE) en suero y fluido de revestimiento epitelial (FRE), obtenidos luego de la administración IM a razón de 15 mg/kg en lechones de destete

Parámetros	Suero	FRE	Valor P
$AUC_{0-8}$ ( $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{ml}$ )	$98.70 \pm 2.70$	$12.37 \pm 1.43$	0.0001
$C_{max}$ ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	$45.00 \pm 2.51$	$3.10 \pm 0.95$	0.0001
$T_{max}$ (h)	$1.00 \pm 0.00$	$2.58 \pm 0.49$	0.0005
$t_{1/2}$ (h)	$1.98 \pm 0.15$	$1.33 \pm 0.37$	0.0173

Tabla II: Comparación de parámetros farmacocinéticos de fosfomicina en suero y en FRE obtenidos luego de la administración IM de fosfomicina a razón de 15 mg/kg en lechones de destete

Diferentes autores han determinado para fosfomicina una concentración inhibitoria mínima (CIM<sub>90</sub>) frente a *Streptococcus sp.* de 0,25 µg/ml. Dicha bacteria es considerada como uno de los agentes patógenos más frecuentemente aislados en enfermedades respiratorias del cerdo. Considerando que la fosfomicina es un antibiótico clasificado como «tiempo dependiente» y que las concentraciones determinadas en FRE se mantuvieron por encima de los valores de CIM<sub>90</sub> establecidos para este patógenos pulmonar por más de 8 h, el uso de fosfomicina a la dosis IM de 15 mg /kg, aparecería entonces como una buena alternativa terapéutica en infecciones estreptocócicas pulmonares en lechones de destete.

### **Caracterización individual y poblacional de la evolución de las concentraciones plasmáticas de fosfomicina administrada vía oral (alimento y agua), en función del consumo voluntario de alimento-agua y rango social en cerdos durante la etapa productiva de crecimiento y desarrollo**

El uso metafiláctico o terapéutico de antimicrobianos en producción porcina implica la administración colectiva o poblacional de los mismos, mediante la incorporación posológica de la formulación antibiótica en el alimento o en el agua de bebida. El éxito curativo-preventivo de dicha estrategia depende de varios factores, apareciendo como principal, el consumo voluntario de alimentos. El comportamiento social del cerdo es un factor que impacta fuertemente sobre el bienestar del animal, provocando cambios en el control fisiológico del consumo voluntario de alimentos (apetito) y, en consecuencia, de los principios activos antibióticos incorporados a los mismos (Place et al., 1995). Por lo tanto, es fácilmente deducible que ello pueda ser causa de variaciones en las concentraciones plasmáticas de los animales tratados y por ende en las interacciones PK/PD del antimicrobiano (Del Castillo, 2005).

#### ***Estudio del comportamiento individual de la disposición y biodisponibilidad de fosfomicina oral en alimento y agua en cerdos durante la fase de crecimiento y desarrollo.***

Una diferencia altamente significativa (P: 0.0098) fue encontrada cuando se compararon las concentraciones plasmáticas de fosfomicina administrada en agua y alimento. Dicha diferencia se relaciona con los distintos valores de biodisponibilidad (F) observados cuando la fosfomicina fue administrada en alimento y en el agua (19',0 ± 1.8 y 24.0 ± 0,5 % respectivamente) (Ver fig 6 y 7 y tabla II). Estos valores fueron menores con respecto a los hallados luego de la administración IM (85.5 %) (Soraci et al 2011 a) y similar al establecido para fosfomicina cálcica en pollos parrilleros (39,3 %) (Soraci et al 2011b), y otros antibióticos tiempo dependientes, tales como, amoxicilina (rango 22,7 ± 2,0 – 25,4 ± 4,7) y oxitetraciclina (17.6 ± 4,0) en lechones destete (Del Castillo et al., 1997;1998).

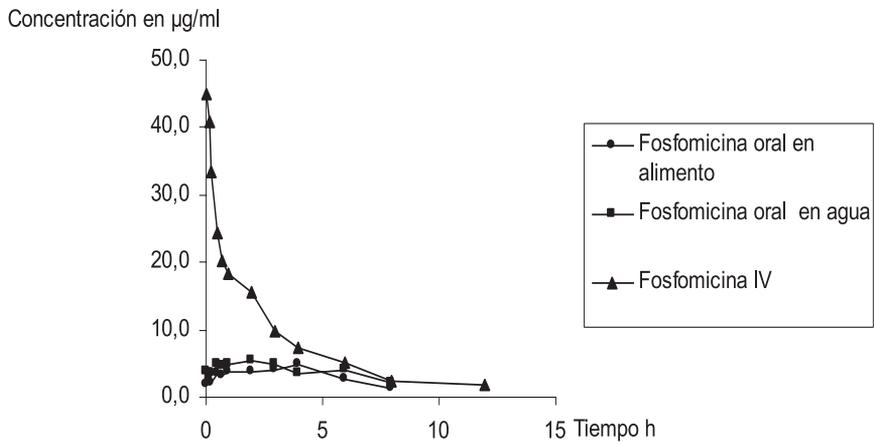


Fig 6. Perfiles plasmáticos promedios de fosfomicina luego de la administración IV y oral en alimento y en agua en cerdos

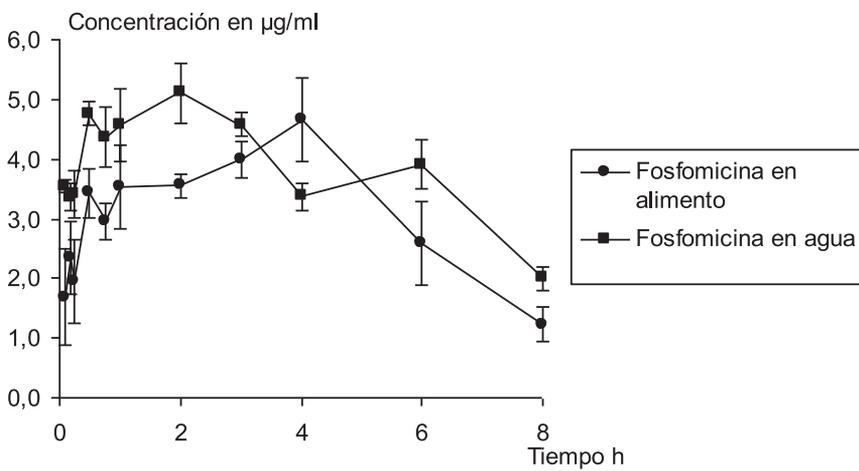


Fig 7. Perfiles plasmáticos promedios de fosfomicina oral (agua y alimento) en cerdos en crecimiento

En la tabla IV. Se presentan los parámetros farmacocinéticos promedio obtenidos luego de la administración (IV) y oral (alimento y agua) de fosfomicina en cerdos.

Parámetros	IV Media (X) ± DS	Oral X ± DS Alimento	Oral X ± SD Agua
$T_{1/2\beta}$ (h)	1.54 ± 0.40	1.85 ± 0.89	2.09 ± 0.3
AUC <sub>0-T</sub> (µg.h/ml)	101.0 ± 22.6	27.0 ± 9.20	31.6 ± 2.1
Vd (ml/Kg)	273.0 ± 40.7		
Cl (ml/h/kg)	140.0 ± 39.6		
MRT (h)	3.5 ± 1.4		
Tmax (h)		4.00 ± 0.0	2.00 ± 0.0
Cmax (µg/ml)		4.7 ± 0.9	5.1 ± 0.0
F (%)		19.0 ± 1.8	24.0 ± 0.5

La baja biodisponibilidad oral observada para fosfomicina en cerdos está asociada a una menor solubilidad de la sal cálcica en el medio intestinal, lo que explica también las diferencias observadas en  $T_{max}$  y  $C_{max}$ , cuando la fosfomicina es administrada en el alimento ( $T_{max}$  4,00 ± 0.0 h;  $C_{max}$  4,7 ± 0.9 µg/ml), o solubilizada previamente en agua ( $T_{max}$  2,00 ± 0.0 h;  $C_{max}$  5,1 ± 0.0 µg/ml). Diferentes autores han determinado para fosfomicina y otros antibióticos hidrosolubles una adsorción a componentes alimentarios en el tubo digestivo (Del Castillo et al., 1998; Soraci et al., 2011 a). Los elementos vegetales, base de la dieta del cerdo, pueden secuestrar temporalmente o de manera permanente diferentes fármacos disminuyendo significativamente la absorción de los mismos (Del Castillo et al., 1998). Por otro lado, de acuerdo a la sal de fosfomicina utilizada, una fracción de la misma es susceptible de ser degradada a pH gástrico. Las sales de fosfomicina cálcica y trometamina son las más estables al pH ácido del estómago (sal cálcica < sal de trometamina), mientras que la sal disódica es parcialmente degradada a nivel gástrico, lo que limita la administración oral de esta sal en cerdos (Gutierrez et al., 2008). La vida media de eliminación IV ( $T_{1/2}$ : 1,54 ± 0,40), fue similar a la observada luego de la administración oral en alimento y agua ( $T_{1/2}$ : 1,85 ± 0,89 y 2,09 ± 0,3 h respectivamente) e IM ( $T_{1/2}$ : 1,85 ± 0,19 h) en lechones (Soraci et al., 2011a). Estos valores se encuentran en concordancia con los valores de vida media encontrados para fosfomicina en otras especies animales: aves, bovinos, equinos y caninos (Aramayona et al., 1997; Soraci et al., 2011 b; Sumano et al., 2007; Zozaya et al., 2008; Gutierrez et al., 2010). El valor medio de clearance fue comparable al porcentaje de filtración glomerular del cerdo (1.73 ml/min/kg), determinado por Eskild-Jensen et al. (2001).

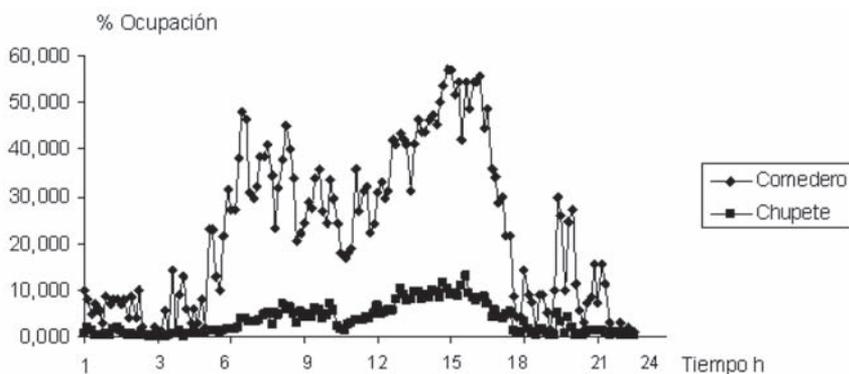
**Estudio del comportamiento poblacional de fosfomicina administrada en alimento y agua en cerdos durante la fase de crecimiento y desarrollo**

Este estudio se llevó a cabo sobre 2 grupos de 18 animales cada uno. Los animales fueron monitorizados mediante el uso del sistema PSS (**PSS**, Pro Surveillance System®) de video grabación durante 15 días de ensayo. El día 11 del ensayo un grupo de animales recibió fosfomicina a razón de 20 mg/kg durante 5 días consecutivos, en el alimento y el otro grupo, la mismas dosis en el agua de bebida. Se evaluó el comportamiento alimenticio y el consumo de agua durante todo el ensayo, como así también el establecimiento del orden jerárquico de los grupos al inicio, mitad y fin de ensayo (índice de rango social (**IRS**), determinado por Lee et al., (1982),Nielsen et al., (1995) y Labroue et al., 1994. Las concentraciones de Fosfomicina fueron analizadas por HPLC MS/MS (Soraci et al., 2011a). El comportamiento alimenticio analizado en función de la ocupación de comederos mostró 2 principales picos de consumo, uno hacia las ocho de la mañana y otro hacia las 16 horas, indicando que las principales visitas se realizaron en horarios diurnos, mientras que en horas de oscuridad las mismas fueron de menor frecuencia (fig 8). El consumo de agua muestra un perfil paralelo al de consumo de alimento (fig 8), pero con menor número de visitas/día (87.3 visitas). El total de visitas promedio/día al comedero fue 136 visitas, incluyendo 7,57 comidas/día efectivas a una velocidad de ingesta de 35- 40,4 g/min. Cada visita tuvo una duración promedio de  $5 \pm 1,4$  min, con consumos de 174.4- 202 g (ver tabla I). El consumo promedio de agua fue de  $3,75 \pm 0,35$  L día /animal

Parámetro observado	Valor Promedio	
Cantidad de alimento consumido/día/animal (kg)	1.318 ± 0.186	
Velocidad de ingestión (g/min)	35 - 40.4	
Nº comidas /día	7,57	
Nº visitas al comedero y bebedero (chupete)/día	Comedero	Bebedero
	136.0	87.3
Duración consumo/día (min)	39 ± 2	
Duración consumo/comida (min)	5.0 ± 1.4	
Cantidad de alimento consumido/comida (g)	174.4-202	

En la Tabla V se muestran los valores promedios del comportamiento alimentario en los grupos de cerdos en ensayo (n: 36)

En la fig 8 se presentan los valores promedios (n: 36) en porcentaje de ocupación de comederos y chupetes en observaciones realizadas en rangos de tiempo de 10 min durante 24 h en cerdos alimentados *ad libitum* durante 15 días de ensayo



El mayor número de peleas fue registrado durante los primeros 2 días de los armados de los grupos y hacia el octavo-noveno día de ensayo. (Ver Fig 9), además ellas fueron significativamente más importantes en comederos que en bebederos (en proximidad de chupetes)

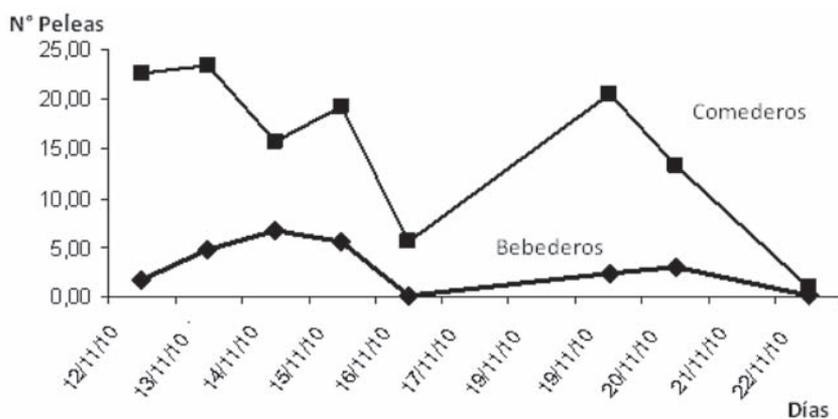


Fig 9. Número de peleas registrado en comederos y bebederos durante 11 días de ensayo.

El estudio de comportamiento social sobre la determinación del orden jerárquico (IRS: Índice de rango social) mostró un 33,3 % de animales dominantes y 23,3 % de animales sumisos en comederos (Ver Fig 4), mientras que en bebederos sólo se observó un 16,6 % de animales dominantes y 11,10 % de animales sumisos. Los valores de IRS de los animales dominantes fueron mayores en comederos que en bebederos (Ver fig.10). Los valores de IRS de los animales sumisos fueron más bajos en comederos que en bebederos indicando que el efecto de la dominancia sobre estos animales fue menor durante el consumo de agua.

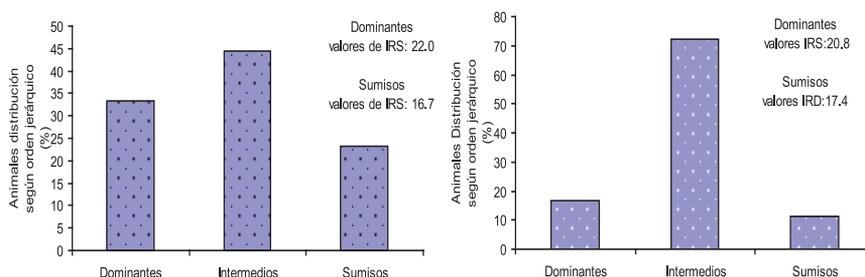


Fig 10. Representación de los porcentajes de animales según su orden jerárquico (animales dominantes y sumisos) a nivel de comedero (Derecha) y bebederos (Izquierda).

Los animales dominantes fueron los que presentaron mayor consumo 202 g/día, mientras que los animales sumisos consumieron 156g/día (ver tabla VI). Los cerdos clasificados como intermedios y sumidos consumieron -18,3 y -22,1 % respectivamente con respecto a los animales dominantes (ver tabla VI). Los valores de IRS y el número de peleas fueron significativamente mayores ( $P > 0.05$ ) en comederos que en bebederos, arrojando diferencias de consumo diario de alimento, entre los animales intermedios y sumidos con respecto a los dominantes, de -18,3 y -22,1% respectivamente. Los animales dominantes presentaron mejor consumo de alimento (consumo/día: 202 g).

Parámetro	Animales Dominantes	Animales Intermedios	Animales Sumisos
Cantidad de alimento consumido/comida (g)	202	165	156
% de la ingesta con respecto al dominante	----	- 18.3	- 22.1

En la tabla VI. Se muestra la cantidad de alimento consumido en g/día, de acuerdo al rango de clasificación social (Animales: dominantes, intermedios y sumisos) y la diferencia de consumo con respecto a los animales dominantes. Las diferencias de consumo observadas pueden claramente explicar la gran variabilidad de concentraciones de fosfomicina encontradas a los diferentes tiempos muestrales cuando el antibiótico fue incorporado al alimento. Esas diferencias fueron menos importantes cuando la fosfomicina fue administrada en el agua de bebida (Fig 11 A y B)

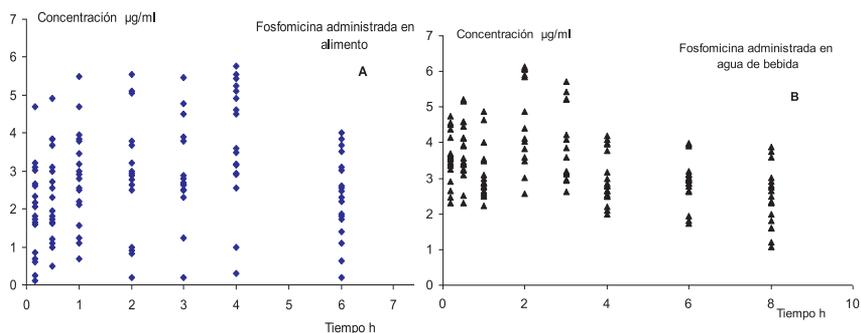
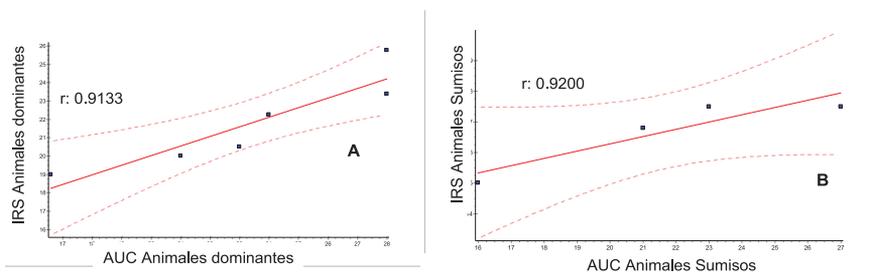


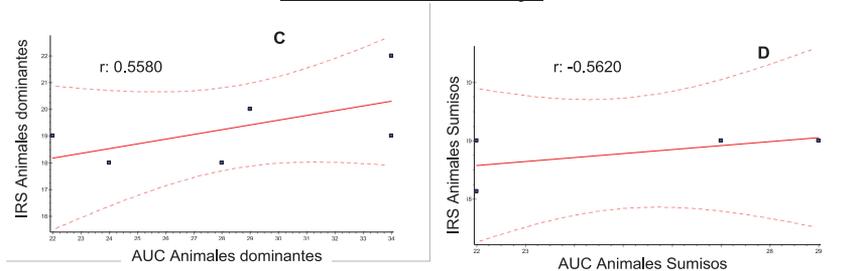
Fig 11 A y B. Concentraciones plasmáticas obtenidas luego del tratamiento de fosfomicina en alimento y agua a razón de 20mg/kg durante 5 días consecutivos

En línea con lo expuesto, cuando se correlacionó los valores de AUC de los animales dominantes y sumisos luego de su administración en el alimento con sus respectivos valores de IRS, los valores fueron de  $r: 0,9133$  y  $0,9200$  respectivamente, indicando una importante incidencia del orden jerárquico sobre el comportamiento plasmático de fosfomicina. Mientras que las correlaciones entre las de AUC de fosfomicina de los animales dominantes y sumisos en el agua con sus respectivos valores de IRS en bebedero (chupete) fueron más bajas ( $r: 0,5580$  y  $0,5620$  respectivamente), indicando que la dominancia tuvo menos efecto sobre el comportamiento hídrico de los animales en estudio.

#### Fosfomicina Administrada en el alimento



#### Fosfomicina Administrada en el agua



Las concentraciones plasmáticas de fosfomicina obtenidas luego de la administración en agua de bebida fueron significativamente mayores ( $P < .0001$ ) con respecto a las determinadas luego de la administración en el alimento. Dichas diferencias fueron similares a las encontradas por nosotros, luego del estudio farmacocinético comparativo de fosfomicina en agua y alimento. La diferencia de las concentraciones observadas cuando fosfomicina fue administrada en alimento y en agua puede ser explicada entonces por el bajo efecto de competencia dominante (IRS y peleas) establecido a nivel de bebederos, como así también, en parte, con una mayor biodisponibilidad de fosfomicina, cuando esta es administrada en agua (F: 24 % agua versus 19 % en el alimento). Sin embargo, es importante considerar que, si bien los perfiles de concentraciones medias de fosfomicina obtenidos en los estudio farmacocinéticos y poblacional siguen una evolución similar, la extrema amplitud de concentraciones observadas luego de la administración poblacional de fosfomicina en el alimento (CV- 41-61 %) hace que un número de cerdos del grupo tratado (particularmente animales sumisos, con concentraciones extremas bajas), tengan serias dificultades para mantener concentraciones estables en el tiempo por encima de una determinada CIM (condición necesaria para un antibiótico «tiempo dependiente»), propendiendo en consecuencia al mantenimiento de una «presión de infección» dentro del lote tratado y/o al desarrollo de resistencia bacteriana. Por otro lado, las altas concentraciones observadas en los animales dominantes podrían ser objeto de mayor permanencia de residuo de antibiótico en el organismo, prolongando su tiempo de retirada.

El comportamiento más estable de las concentraciones de fosfomicina observado luego de la administración en agua de bebida muestra la importancia del uso de esta matriz biológica como vector terapéutico para el tratamiento colectivo en porcicultura intensiva. Los resultados discutidos marcan a las claras las diferencias existentes entre los estudios farmacocinéticos de antimicrobianos realizados bajo condiciones controladas (donde se asegura la dosis/kg de peso vivo administrada y se evitan entornos de estrés social, ambiental y alimenticio), con relación a los estudios poblacionales de antimicrobianos realizados en granjas comerciales («situaciones reales» de uso de antibióticos) (Del Castillo et al., 2005). Una interpretación conjunta de dichos estudios (farmacocinéticos y poblacionales), es necesaria para validar los estudios farmacocinéticos pre-clínicos, disminuir las posibilidades de fracasos terapéuticos, el desarrollo de resistencia bacteriana y riesgos de higiene alimentaria.

## **BIBLIOGRAFÍA**

Aramayona, J.J., Bregante, M.A., Solans, C., Rueda, S., Fraile, L.J., Garcia, M.A. (1997). Pharmacokinetics of fosfomicin in chickens after a single intravenous dose and tissue levels following chronic oral administration. *Veterinary Research*, 28, (6) 581-588.

Baggot, D. (1977). Principles of drug disposition in domestic animals. In *The Basics of Veterinary Clinical Pharmacology*. Ed. Baggot, D. pp. 1–22. W.B. Saunders, Philadelphia, PA.

Cregan M. D., Hartmann P. E. (1999). Computerized breast measurement from conception to weaning : clinical implications. *Journal of Human Lactation*, 15, 89-96

Del Castillo, J.R.E., Elsener, J., Martineau, G.P. (1998). Pharmacokinetic modeling of in-feed tetracyclines in pigs using a meta-analytic compartmental approach. *Swine Health and Production*, 6, (5) 189-202.

Del Castillo, J.R.E., (2005). Personal communication. Annual Meeting of Western Canadian Association of Swine Practitioners, October 14-15, Saskatoon.

Damase-Michel C., Rolland M., Assouline C., Tricoire J., Lacroix I. (2004). Médicaments et allaitement maternel. *EMC-Médecine*, 1, 417-432

Deville N., Le Dividich J., Farmer C., Mounier A.M., Lefebvre M., Prunier A. (2005). Origine et conséquences de la variabilité de la production de colostrum par la truie et de la consommation de colostrum par les porcelets. *Journal de Recherche. Porcine France.*, 37, 435-442.

Eskild-Jensen, A., Thomsen, K., Rungø, C., Ferreira, L.S., Fogt Paulsen, L., Rawashdeh, Y.F., Nyengaard, J.R., Nielsen, S., Djurhuus, J.C., and Frøkiær, J. (2007). Glomerular and tubular function during AT1 receptor blockade in pigs. *American Journal of Physiology - Renal Physiology*, 292, 921-929.

Falconer I.R. (1980). Aspects of the biochemistry, physiology and endocrinology of lactation. *Australian Journal of Biological Sciences*, 33, 71-84.

Farmer C. (2001). The role of prolactin for mammogenesis and galactopoiesis in swine. *Livestock Production Science*, 70, 105-113.

Fleishaker J., C. (2003). Models and methods for predicting drug transfer into human milk. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 55, 643-652.

Georgievskii, V.I. (1982). General information on minerals. In: Georgievskii, V.I., B.N. Annenkov and V.I. Samokhin (eds.), *Mineral Nutrition of Animals*. Butterworths, London. p.11-56.

Gremmo-Féger G., Dobrzynski M., Collet M. (2003). Allaitement maternel et médicaments. *Journal de Gynécologie, Obstétrique et Biologie de la Reproduction*, 32, 466-475

Gutierrez, O.L., Ocampo, C.L., Aguilera, J.R., Luna, J., Sumano, L.H. (2008). Pharmacokinetics of disodium fosfomicin in mongrel dogs. *Research in Veterinary Science*, 85, 156-161.

Labroue, F., Guéblez, R., Sellier, P., Meunier-Salaün, M.C. (1994). Feeding behaviour of group-housed Large White and Landrace pigs in French central test stations. *Livestock Production Science*, 40, 303-312.

Lee, Y.P., Craig, J.V., Dayton, A.D. (1982). The social rank index as a measure of social status and its association with egg production on White Leghorn pullets. *Applied Animal Ethology*, 8, 377-390.

Le Dividich, J.; Martineau, G.P.; Thomas, F.; Demay, H.; Renoult, H; Homo, C.; Boutin, D.; Gaillard, L.; Surel, Y.; Bouétard, R. et Massard, M. (2004). Acquisition de l'immunité passive chez les porcelets et production de colostrum chez la truie. *Journées de Recherche Porcine*, 36, 451-456.

Leforban Y., Vannier P. (1989). Five comparative methods of blood sampling in pigs, and their respective advantages and disadvantages in the chain of analysis. *Recueil Medicine Veterinaire*, 165, 135-44.

Lucas M. F., Errecalde, J. O., Mestorino, N. (2010). Pharmacokinetics of azithromycin in lactating dairy cows with subclinical mastitis caused by *Staphylococcus aureus*. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 33, 132-40.

Mestorino, N. (2003). Uso racional de antimicrobianos en animales de compañía. X Jornadas Latinoamericanas de Fármaco-Toxicología Veterinaria - XV Nacionales. Universidad Nacional de La Plata, La Plata, Argentina.

Nielsen, B.L., Lawrence, A.B., Whittemore, C.T. (1995b). Effect of group size on feeding behaviour, social behaviour, and performance of growing pigs using single-space feeders. *Livestock Production Science*, 44, 73-85.

Nouws, J. F. M. (1992). Pharmacokinetics in immature animals: A review. *Journal of Animal Science*. 70, 3627-3634.

Pons G., Rey E. (2003). Passage des médicaments Dans le lait, 17-26. In: Les médicaments en périnatologie. Paris: Masson.

Popovic, M., Steinort, D., Pillai, S., Joukhadar, C. (2010). Fosfomicin: an old, new friend? *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*. 29, 127-42.

Shields, R. G., Mahan Jr., D. C., and Cahill V. R. (1983). A comparison of methods for estimating carcass and empty body composition in swine from Birth to 145 kg. *Journal of Animal Science*, 57, 55-65.

Soraci A. L.; Amanto, F.; Harkes R.; Pérez, D. S.; Martínez, G.; Dieguez, S. N.; Tapia, M. O. (2010a). Uso Estratégico De Aditivos: Impacto Sobre el Equilibrio y Salud Gastrointestinal del Lechón. *Analecta Veterinaria*. 30, 42-53.

Soraci, A.L., Amanto, F.A., Pérez, D.S., Martínez, G., Diéguez, S.N., Vega, M.F., Tapia, M.O. (2010b). Metodología de cateterismo yugular en lechones de destete. *Analecta Veterinaria*, 30, 12-15.

Soraci, A.L., Pérez, D.S., Martínez, G., Dieguez, S., Tapia M.O., Amanto F.A., Harkes, R., Romano, O. (2011a). Disodium-fosfomicin pharmacokinetics and bioavailability in post weaning piglets. *Research in Veterinary Science*, 90, 498-502.

Soraci, A.; Pérez, D. S.; Martinez, G.; Dieguez, S.; Tapia M.O.; Coulsi, A.; Harkes, R.; Romano, O. (2011b). Pharmacokinetics and bioavailability of fosfomicin in broiler chicken. *Revue de Médecine Vétérinaire*, 162, 358-363.

Toutain, P.L. Bousquet-Mélou, A. and Martinez, M. (2007). AUC/MIC: a PK/PD index for antibiotics with a time dimension or simply a dimensionless scoring factor? *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 60, 1185-1188.

Thomson J.U. (1991). Blood collection techniques in swine. *Agri- Practice*, 12, 46-52.

Zozaya, D.H., Gutiérrez, O.L., Ocampo, C.L., Sumano, L.H. (2008). Pharmacokinetics of a single bolus intravenous, intramuscular and

subcutaneous dose of disodium fosfomycin in horses. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 31, 321-327.