



Universitat Autònoma de Barcelona

**ADVERTIMENT.** L'accés als continguts d'aquesta tesi queda condicionat a l'acceptació de les condicions d'ús establertes per la següent llicència Creative Commons:  [http://cat.creativecommons.org/?page\\_id=184](http://cat.creativecommons.org/?page_id=184)

**ADVERTENCIA.** El acceso a los contenidos de esta tesis queda condicionado a la aceptación de las condiciones de uso establecidas por la siguiente licencia Creative Commons:  <http://es.creativecommons.org/blog/licencias/>

**WARNING.** The access to the contents of this doctoral thesis it is limited to the acceptance of the use conditions set by the following Creative Commons license:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=en>

# Evaluación de los perfiles cinéticos y de las interacciones de fármacos coadministrados en pienso en explotaciones porcinas

Tesis Doctoral

**Diana Ramírez Llorente**

Bajo la dirección de

**Dr. Carles Cristòfol i Adell**

Departament de Farmacologia, de Terapèutica i de Toxicologia  
Facultat de Veterinària  
Universitat Autònoma de Barcelona

Septiembre de 2016

Dr. **Carles Cristòfol i Adell**, profesor asociado del *Departament de Farmacologia, de Terapèutica i de Toxicologia* de la *Facultat de Veterinària* de la *Universitat Autònoma de Barcelona*,

CERTIFICA:

Que la memoria titulada **Evaluación de los perfiles cinéticos y de las interacciones de fármacos coadministrados en pienso en explotaciones porcinas**, presentada por **Diana Ramírez Llorente** para optar al grado de Doctor, ha sido realizada bajo su dirección y, considerándola finalizada, autoriza su presentación para que sea juzgada por el tribunal correspondiente.

Y para que conste, firmo el presente certificado.

Bellaterra, 13 de septiembre de 2016

Dr. Carles Cristòfol i Adell

## **AGRADECIMIENTOS**

Ha sido difícil, después de varios años intentando compaginar mi trabajo en la empresa privada con el desarrollo de mi tesis, me cuesta creer que haya llegado hasta aquí. Sin embargo, sé que no lo habría conseguido sin el apoyo de las personas a las que hoy, con todo mi cariño, debo dar las gracias.

Al doctor Carles Cristòfol por su apoyo, su paciencia y su ayuda, sobre todo en los momentos en los que hubiera sido más fácil abandonar.

A Josep Farreres, Joan Potrony y Josep Maria Pascal, compañeros y amigos veterinarios por abrirme las puertas de sus granjas.

A mi amigo Oriol Peris por toda su ayuda experimental, emocional e incondicional.

A mis amigos y compañeros de trabajo Anne Koski y Gp Cribari por su toque mágico editorial y por su apoyo cafetero.

A mi amiga Marta Jiménez, gran conocedora del sector porcino, por su ayuda inestimable en el proyecto.

A Miquel Serra, no sólo por quererme tanto y apoyarme en esta aventura, sino por toda su ayuda, su crítica constructiva de veterinario clínico, su comprensión y por transmitirme toda su positividad.

Y por supuesto, esta tesis va dedicada a toda mi familia, en especial a mis padres por todos sus esfuerzos, su apoyo y su amor a lo largo de mi vida y a mi hijo Lucas, al que quiero con locura.

## ABREVIATURAS

<b>AEMPS</b>	Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios
<b>AMX</b>	Amoxicilina
<b>ANCOVA</b>	Análisis de covarianza
<b>ANOVA</b>	Análisis de varianza
<b>ANR</b>	Ácido ribonucleico
<b>AUC</b>	Área bajo la curva de concentración plasmática <i>vs</i> tiempo
<b>AUC<sub>0-t</sub></b>	Área bajo la curva de concentración plasmática <i>vs</i> tiempo de tiempo cero a tiempo t
<b>AUC/MIC</b>	Relación entre el área bajo la curva de concentración plasmática <i>vs</i> tiempo y la concentración mínima inhibitoria
<b>AUMC</b>	Área bajo la curva tiempo-concentración plasmática en el primer momento estadístico
<b>CIA</b>	Antimicrobianos de importancia crítica
<b>CLS</b>	Colistina
<b>C</b>	Colistina
<b>C<sub>max</sub></b>	Concentración plasmática máxima observada
<b>C<sub>min</sub></b>	Concentración plasmática mínima observada
<b>C<sub>max</sub>/MIC</b>	Relación entre la concentración plasmática maxima y la concentración mínima inhibitoria
<b>CRP</b>	Complejo Respiratorio Porcino
<b>CTC</b>	Clortetraciclina
<b>D.E.</b>	Desviación estándar
<b>DOX</b>	Doxiciclina
<b>ECDC</b>	European Center for Disease Prevention and Control
<b>EFSA</b>	European Food Safety Authority
<b>EMA/EMA</b>	Agencia Europea del Medicamento
<b>ESVAC</b>	European Surveillance of Veterinary Antimicrobial Consumption
<b>FAO</b>	Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura
<b>FCEC</b>	Food Chain Evaluation Consortium
<b>FEFAC</b>	European Feed Manufacturers' Federation
<b>FT</b>	Ficha técnica
<b>LCM</b>	Lincomicina
<b>LMR</b>	Límite máximo de residuos
<b>MBC</b>	Concentración mínima bactericida
<b>MIC</b>	Concentración mínima inhibitoria
<b>MIC<sub>50</sub></b>	Concentración mínima inhibitoria para el 50% de las cepas analizadas
<b>MIC<sub>90</sub></b>	Concentración mínima inhibitoria para el 90% de las cepas analizadas

---

<b>MLS<sub>B</sub></b>	macrólidos, lincosamidas y estreptogramina B
<b>MRSA</b>	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente a metacilina
<b>MRT</b>	Tiempo medio de residencia
<b>OTC</b>	Oxitetraciclina
<b>OZn</b>	Óxido de Zinc
<b>PAE</b>	Efecto postantibiótico
<b>PCU</b>	Unidad de corrección poblacional
<b>PNC V</b>	Fenoximetilpenicilina
<b>PRRS</b>	Síndrome Respiratorio y Reproductivo Porcino
<b>PK/PD</b>	Farmacocinético/Farmacodinámico
<b>pv</b>	peso vivo
<b>RAM</b>	Resistencias a antimicrobianos
<b>RCP</b>	Resumen de características del producto
<b>RD</b>	Real Decreto
<b>SEFV</b>	Servicio Español de Farmacovigilancia
<b>SLF*TMP</b>	Sulfadiacina + Trimetoprim
<b>SPM</b>	Espectinomicina
<b>SRU</b>	Sachverständigenrat für Umweltfragen (Consejo de Asesores Ambientales)
<b>TC</b>	Tetraciclinas
<b>TLS</b>	Tilosina
<b>T &gt; MIC</b>	Tiempo sobre la concentración mínima inhibitoria
<b>Tm</b>	Toneladas
<b>TML</b>	Tiamulina
<b>UAB</b>	Universitat Autònoma de Barcelona
<b>USP</b>	Farmacopea de Estados Unidos
<b>WHO</b>	Organización Mundial de la Salud

## RESUMEN

La utilización de antimicrobianos en pienso durante las fases más críticas del engorde en cerdos es una práctica habitual y mayoritaria en el sector porcino español y catalán. Estos tratamientos múltiples, a menudo con un elevado riesgo de mala dosificación, comportan un alto grado de exposición a los antimicrobianos que estaría disminuyendo su eficacia terapéutica a la vez que favoreciendo la aparición de resistencias. Una manera de disminuir estos riesgos es mejorar el conocimiento del comportamiento farmacocinético de estos fármacos bajo condiciones de uso reales.

En primer lugar, mediante el presente trabajo de tesis, se pretendió evaluar el patrón de uso profiláctico de antimicrobianos en piensos en el contexto de Catalunya, es decir, cuáles eran las premezclas medicamentosas más utilizadas, de qué manera y durante cuánto tiempo se administraban en las explotaciones porcinas catalanas. Para ello, se realizaron encuestas a empresas fabricantes de pienso e integradoras del sector porcino, cuya producción anual representó un 27.5% del total de piensos medicamentosos para lechones fabricados en Catalunya en 2012.

Además, se evaluó si la coadministración en el pienso de antimicrobianos (clortetraciclina/oxitetraciclina, tilosina y colistina) modificaba su patrón farmacocinético, tanto en animales sanos como enfermos. Se utilizaron 40 cerdos sanos de una misma granja en fase de transición divididos en 4 grupos, a los que se les administró pienso *ad libitum* durante 8 días (A: tilosina; B: clortetraciclina; C: clortetraciclina y tilosina, D: clortetraciclina, tilosina y colistina). Por otra parte, se seleccionaron 69 cerdos con síntomas de enfermedad repartidos en 3 granjas diferentes y a los que se les estaba administrando pienso medicamentoso que combinaba la clortetraciclina/oxitetraciclina con otras premezclas medicamentosas a base de tilosina, lincomicina, colistina u óxido de zinc. Se evaluaron las concentraciones plasmáticas de clortetraciclina en animales sanos y enfermos y se obtuvieron algunos parámetros farmacocinéticos (AUC,  $C_{max}$ ,  $C_{min}$  y MRT). Por último, mediante la aplicación del análisis PK/PD se evaluó la eficacia terapéutica de las premezclas medicamentosas utilizadas en condiciones de uso real en animales sanos o en presencia de enfermedad. Con este fin, se obtuvieron de la literatura los valores MIC de los principales patógenos porcinos para los que la clortetraciclina o la oxitetraciclina están indicadas y se calcularon los principales índices de eficacia ( $T > MIC$ ,  $C_{max}/MIC$ ,  $AUC/MIC$ ).

---

Todas las empresas encuestadas coadministraban antimicrobianos y/o óxido de zinc de manera profiláctica al menos durante los 3 primeros meses de vida de los animales. La amoxicilina y la colistina, consideradas de importancia crítica en medicina humana y las tetraciclinas fueron los más utilizados en lechones. Además, un 42% de las combinaciones contenían al menos un antimicrobiano con efecto antagónico al resto y la duración de los tratamientos fue muy superior al recomendado para algunos antimicrobianos. En animales sanos, la coadministración de tilosina, colistina y óxido de zinc no afectó al perfil farmacocinético de la clortetraciclina. Sin embargo, en animales enfermos la variabilidad de los perfiles cinéticos fue mayor aunque las magnitudes de la AUC,  $C_{\max}$  y  $C_{\min}$  fueron significativamente menores que en los animales sanos. Por último, tras el análisis PK/PD, tanto la clortetraciclina como la oxitetraciclina no resultarían eficaces contra los patógenos descritos en las fichas técnicas de las premezclas medicamentosas con autorización vigente. Los resultados del presente trabajo sugieren, además, que a las dosis recomendadas no se asegura la curación clínica, aunque tendrían un efecto de control de la enfermedad. Como contrapartida, actuarían favoreciendo la aparición de resistencias. Es por ello que las fichas técnicas de las premezclas medicamentosas a base de clortetraciclina y oxitetraciclina deben ser revisadas para asegurar que las dosis recomendadas son realmente eficaces en el contexto de aumento de resistencias existente en la actualidad.



# ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS.....	III
ABREVIATURAS .....	IV
RESUMEN.....	VI
ÍNDICE.....	VIII
ÍNDICE DE FIGURAS .....	X
ÍNDICE DE TABLAS.....	X
1 REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA .....	13
1.1 Introducción .....	13
1.2 Marco regulador europeo sobre medicamentos veterinarios .....	15
1.2.1 Uso y regulación de piensos medicamentosos.....	18
1.3 Uso de antimicrobianos en medicina veterinaria .....	20
1.3.1 Uso de antimicrobianos en porcino .....	22
1.3.2 Fases del engorde en porcino relacionadas con el uso de antimicrobianos.....	23
1.4 Resistencias antimicrobianas: acciones a nivel europeo.....	25
1.5 Clortetraciclina.....	32
1.5.1 Características fisicoquímicas .....	33
1.5.2 Mecanismo de acción .....	34
1.5.3 Actividad antibacteriana .....	35
1.5.4 Resistencia bacteriana.....	36
1.5.5 Características farmacocinéticas.....	36
1.5.6 Características farmacodinámicas .....	38
1.6 Tilosina .....	42
1.6.1 Características fisicoquímicas .....	42
1.6.2 Mecanismo de acción .....	43
1.6.3 Actividad antibacteriana .....	44
1.6.4 Resistencia bacteriana.....	44
1.6.5 Características farmacocinéticas.....	45
1.6.6 Características farmacodinámicas .....	46
1.7 Colistina .....	47
2 HIPÓTESIS Y OBJETIVOS .....	50
3 MATERIALES Y MÉTODOS .....	51
3.1 Encuesta sobre uso de antibacterianos en producción porcina .....	51
3.1.1 Formulario .....	51
3.1.2 Selección de los tratamientos a aplicar .....	51
3.2 Análisis de las muestras .....	52
3.2.1 Análisis cromatográfico.....	52
3.2.2 Análisis serológico.....	52
3.3 Animales sanos .....	52
3.3.1 Productos de ensayo .....	52
3.3.2 Materiales .....	52
3.3.3 Animales .....	53
3.3.4 Tratamientos .....	53
3.3.5 Diseño experimental .....	54
3.3.6 Obtención y conservación de las muestras .....	54
3.4 Animales enfermos .....	54
3.4.1 Selección de las granjas .....	54

	3.4.2	Producto de ensayo .....	56
	3.4.3	Diseño experimental .....	57
	3.4.4	Obtención y conservación de las muestras .....	57
	3.5	Análisis farmacocinético.....	58
	3.6	Análisis PK/PD .....	59
	3.7	Evaluación estadística.....	59
4		RESULTADOS.....	61
	4.1	Resultados de la encuesta de consumo de piensos.....	61
	4.2	Resultados analíticos.....	74
	4.2.1	Análisis de las concentraciones plasmáticas de clortetraciclina .....	74
	4.2.2	Análisis de las concentraciones plasmáticas de oxitetraciclina .....	74
	4.2.3	Análisis de las concentraciones plasmáticas de tilosina .....	74
	4.3	Animales sanos .....	75
	4.3.1	Selección de los animales sanos .....	75
	4.3.2	Consumo de pienso.....	75
	4.3.3	Pesos corporales.....	76
	4.3.4	Dosis administradas .....	77
	4.3.5	Concentraciones plasmáticas .....	78
	4.3.6	Parámetros farmacocinéticos .....	79
	4.4	Animales enfermos .....	79
	4.4.1	Granja Artesa de Lleida .....	79
	4.4.2	Granja Belcaire d'Urgell .....	83
	4.4.3	Granja Ponts.....	87
	4.4.4	Parámetros farmacocinéticos .....	90
	4.5	Análisis PK/PD .....	90
	4.5.1	Determinación de los índices PK/PD .....	90
5		DISCUSIÓN .....	95
	5.1	Piensos medicamentosos.....	95
	5.2	Uso de antimicrobianos como premezclas medicamentosas .....	99
	5.2.1	Combinaciones de antimicrobianos .....	103
	5.2.2	Dosificación y duración de los tratamientos.....	106
	5.3	Estudio en animales sanos .....	109
	5.3.1	Concentraciones plasmáticas .....	110
	5.3.2	Farmacocinética de clortetraciclina .....	114
	5.4	Estudio en animales enfermos .....	116
	5.4.1	Concentraciones plasmáticas .....	120
	5.4.2	Farmacocinética de clortetraciclina/oxitetraciclina .....	121
	5.5	Estudio farmacocinético/farmacodinámico .....	122
	5.6	Repercusiones del uso de antimicrobianos en pienso en la actualidad .....	126
6		CONCLUSIONES .....	131
7		BIBLIOGRAFÍA .....	133
8		APÉNDICES.....	148

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1:	Producción total de piensos en diferentes países europeos en 2008 en relación con la fabricación de piensos medicamentosos .....	18
Figura 2:	Distribución de las ventas, en mg/PCU por forma farmacéutica de antibióticos en animales de consumo en 25 países de la Unión Europea en 2011 .....	20
Figura 3:	Ciclo productivo porcino.....	23
Figura 4:	Estructura química de la clortetraciclina y mecanismo de acción .....	34
Figura 5:	Estructura química de la tilosina y mecanismo de acción.....	43
Figura 6:	Aumento del consumo de pienso respecto a la ingesta de las primeras 24 horas (%) en los diferentes grupos de tratamiento .....	76
Figura 7:	Promedio del aumento de peso diario observado entre los días 0 y 8, expresados en kilogramos o como porcentaje del peso inicial de los animales correspondientes a los diferentes grupos .....	77
Figura 8:	Curvas tiempo-concentración plasmática (media grupal) de clortetraciclina entre 168, 180 y 192 h desde el inicio del tratamiento en los diferentes grupos experimentales .....	78
Figura 9:	Concentraciones plasmáticas de clortetraciclina en animales enfermos tras 9 o 5 días de tratamiento con pienso medicamentoso <i>ad libitum</i> .....	82
Figura 10:	Concentraciones plasmáticas de clortetraciclina en animales enfermos tras 11 días de tratamiento con pienso medicamentoso <i>ad libitum</i> .....	86
Figura 11:	Concentraciones plasmáticas de oxitetraciclina en animales enfermos tras 9 días de tratamiento con pienso medicamentoso <i>ad libitum</i> .....	89
Figura 12:	Porcentaje de pienso medicamentoso con respecto al total de pienso producido en Catalunya en el 2011.....	96
Figura 13:	Curvas tiempo-concentración plasmática de Clortetraciclina (A) y Doxiciclina (B)* el último día de tratamiento (de 168 a 180h y de 96 a 120h post inicio de administración, respectivamente).....	113
Figura 14:	Frecuencia de cada signo clínico en los animales seleccionados en las diferentes granjas .....	117
Figura 15:	Concentraciones plasmáticas de clortetraciclina/oxitetraciclina corregidas por la dosis en animales sanos y enfermos tras la administración <i>ad libitum</i> de pienso medicamentoso a base de diferentes combinaciones de antimicrobianos.....	120

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1:	Prohibición de uso de promotores de crecimiento .....	15
Tabla 2:	Procedimientos de autorización de medicamentos veterinarios y establecimiento de límites máximos de residuos en la Unión Europea.....	16
Tabla 3:	Producción de pienso medicamentoso y producción total de pienso en Catalunya por especies.....	18

Tabla 4:	Adaptada del Plan de acción contra la amenaza creciente de resistencias antimicrobiana (COM (2011) 748 final).....	27
Tabla 5:	Líneas estratégicas, medidas y acciones en salud animal adaptado del <i>Plan estratégico y de acción para reducir el riesgo de selección y diseminación de resistencias a los antibióticos</i> (AEMPS, 2014).....	28
Tabla 6:	Cronología de aparición de las tetraciclinas.....	33
Tabla 7:	Susceptibilidad de diferentes patógenos porcinos a las tetraciclinas (del Castillo, 2013).....	35
Tabla 8:	Valores de MIC para clortetraciclina y oxitetraciclina .....	41
Tabla 9:	Susceptibilidad de diferentes patógenos porcinos a la tilosina .....	44
Tabla 10:	Tratamientos en pienso utilizados en animales sanos .....	53
Tabla 11:	Combinaciones de antimicrobianos utilizadas en las granjas del estudio .....	55
Tabla 12:	Raza y número de animales utilizados por granja.....	56
Tabla 13:	Antimicrobianos, dosificación en pienso y días en tratamiento de los animales .....	57
Tabla 14:	Cantidades anuales de pienso medicamentoso producido con antimicrobianos y/o óxido de zinc por empresas fabricantes de pienso en Catalunya .....	61
Tabla 15:	Cantidad anual (Tm) de pienso medicamentoso según el principio activo y el porcentaje que representa del total de pienso fabricado en cada fase .....	62
Tabla 16:	Cantidades anuales (kg) de principio activo en función de la etapa productiva y el porcentaje respecto del total. La fase de crecimiento incluye el pienso prestarter y starter.....	63
Tabla 17:	Número de cerdos producidos en un año por cada empresa y por tipo de pienso .....	63
Tabla 18:	Porcentaje de animales tratados anualmente con cada antimicrobiano.....	64
Tabla 19:	Frecuencia de cada combinación de antimicrobianos y óxido de zinc por tipo de pienso y porcentaje de animales expuestos a cada combinación.....	65
Tabla 20:	Dosificación en pienso, duración de los tratamientos e interacciones de antimicrobianos; comparación de su uso real y el indicado en la ficha técnica de los productos comerciales utilizados en piensos de lechones.....	67
Tabla 21:	Dosificación en pienso, duración de los tratamientos e interacciones de antimicrobianos; comparación de su uso real y el indicado en la ficha técnica de los productos comerciales utilizados en piensos de cerdas gestantes.....	72
Tabla 22:	Dosis estimadas de antimicrobiano ingerido en cada grupo de administración .....	77
Tabla 23:	Parámetros farmacocinéticos (media grupal) de clortetraciclina en cerdos sanos tras la administración de pienso medicado con diferentes combinaciones de antimicrobianos.....	79
Tabla 24:	Producto comercial, principio activo y nivel de inclusión en pienso de antimicrobianos utilizados .....	80

Tabla 25: Resumen de los resultados clínicos y pruebas adicionales considerados en el diagnóstico de enfermedad en la granja de Artesa de Lleida .....	81
Tabla 26: Dosificación en pienso, dosis estimada por animal y comparación con la ficha técnica antimicrobianos utilizados.....	82
Tabla 27: Parámetros farmacocinéticos (media grupal) de clortetraciclina en cerdos enfermos tras la administración de pienso medicamentoso durante 5 o 9 días .....	83
Tabla 28: Producto comercial, principio activo y nivel de inclusión en pienso de antimicrobianos utilizados .....	84
Tabla 29: Resumen de la resultados clínicos en el diagnóstico de enfermedad en la granja de Belcaire d'Urgell.....	84
Tabla 30: Dosificación en pienso, dosis estimada por animal y comparación con la ficha técnica antimicrobianos utilizados.....	85
Tabla 31: Parámetros farmacocinéticos de clortetraciclina.....	86
Tabla 32: Producto comercial, principio activo y nivel de inclusión en pienso de antimicrobianos utilizados .....	87
Tabla 33: Resumen de los resultados clínicos considerados en el diagnóstico de enfermedad en la granja de Ponts .....	88
Tabla 34: Dosificación en pienso, dosis estimada por animal y comparación con la ficha técnica de antimicrobianos utilizados .....	89
Tabla 35: Parámetros farmacocinéticos de oxitetraciclina obtenidos en animales enfermos.....	90
Tabla 36: Índices PK/PD para clortetraciclina correspondientes a diferentes microorganismos .....	91
Tabla 37: Índices PK/PD para oxitetraciclina correspondientes a diferentes microorganismos .....	92
Tabla 38: Valores individuales de AUC/MIC y T>MIC para clortetraciclina y oxitetraciclina frente a <i>B. bronchiseptica</i> y <i>M. hyopneumoniae</i> , respectivamente, en animales sanos y enfermos.....	94
Tabla 39: Concentración plasmática media de clortetraciclina según el nivel de inclusión en pienso .....	112
Tabla 40: Parámetros farmacocinéticos de clortetraciclina normalizados por la dosis .....	115
Tabla 41: Indicaciones de los antimicrobianos utilizados en el estudio de animales enfermos según la ficha técnica de cada producto comercial .....	119
Tabla 42: Parámetros farmacocinéticos de clortetraciclina u oxitetraciclina en cerdos sanos y enfermos tras la administración <i>ad libitum</i> de pienso medicamentoso a base de diferentes combinaciones de antimicrobianos .....	121
Tabla 43: Actividad antimicrobiana de premezclas medicamentosas de clortetraciclina.....	123
Tabla 44: Actividad antimicrobiana de premezclas medicamentosas de oxitetraciclina.....	124

# 1 REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

## 1.1 Introducción

A pesar de los esfuerzos realizados por el sector porcino para mejorar el manejo en las explotaciones y por tanto disminuir el uso de antimicrobianos, su utilización en piensos durante las primeras etapas del engorde sigue siendo generalizado en las explotaciones porcinas catalanas. Además, durante las fases de destete y entrada a engorde (precebo), existen diversos factores de estrés (cambio de corrales, mezcla de animales de diferentes orígenes, etc.) que pueden afectar a la función inmunitaria y la salud del animal, aumentando el riesgo de enfermedades. Es por esta razón que, especialmente durante las fases citadas, los animales son tratados con antimicrobianos de diferente espectro de acción, administrados conjuntamente en pienso, con el objetivo de minimizar el riesgo de aparición de patologías respiratorias y/o digestivas. Estos tratamientos múltiples y no individualizados implican un alto riesgo de mala dosificación, debido a una menor biodisponibilidad de los fármacos ya que posiblemente los animales enfermos reducirán su consumo. Además, pueden producirse degradaciones del fármaco por el proceso de fabricación del pienso, interacciones con otros componentes del pienso o con otros fármacos que también pueden contribuir a reducir la biodisponibilidad.

Es importante destacar también que estas condiciones implican en la mayoría de los casos un uso diferente al recomendado según la legislación y el registro de fármacos veterinarios, tanto en dosificación como en duración de los tratamientos.

La vía de administración oral es la más extendida en las explotaciones ganaderas ya que permite medicar un gran número de animales. En España, por ejemplo, las medicaciones orales (incluyendo premezclas medicamentosas para piensos, polvos orales y soluciones orales) representaron más del 90% del total de ventas de antimicrobianos en el año 2010, siendo las premezclas medicamentosas destinadas a piensos las mayoritarias, con más de un 60% de las ventas. Esto hace pensar que un gran número de animales puede estar expuesto a antibióticos durante determinados períodos del engorde, lo cual puede contribuir a disminuir la eficacia terapéutica a la vez que puede favorecer la aparición de resistencias microbianas. Una manera de disminuir estos riesgos es mejorar el conocimiento de los parámetros farmacocinéticos de los fármacos bajo condiciones de uso reales.

El uso de antibióticos en medicina veterinaria se remonta a finales de la Segunda Guerra Mundial, cuando por primera vez y, tras conseguir fabricarla a escala industrial, se utilizó la penicilina, en infusión intramamaria e inyección subcutánea, para el tratamiento de mastitis estafilocócica y estreptocócica en vacas (Soulsby, 2008). Poco tiempo después, los antibióticos comenzaron a ser utilizados no sólo para el tratamiento de animales enfermos, sino para tratar animales asintomáticos que convivían con los enfermos, como medida profiláctica. Así Moore et al. (1946) y en Stokstad et al. (1949) constataron que pollos alimentados con estreptomina y clortetraciclina respectivamente, presentaban un mayor crecimiento. A principios de los años 50, otros investigadores demostraron el mismo efecto de la clortetraciclina en terneros (Bartley et al., 1950) y de clortetraciclina (Cunha et al., 1950) y estreptomina (Luecke et al., 1950) en cerdos. Estos hallazgos, junto con el inicio de la industrialización de las explotaciones, contribuyeron al uso masivo de antibióticos en animales destinados al consumo. No obstante, su utilización pronto empezó a ser regulada del mismo modo que cualquier otro tipo de medicamento.

Noruega en 1928 y Suecia en 1935 fueron los primeros países en Europa en crear instituciones encargadas de aprobar la comercialización de medicamentos en sus territorios. En otros países la elaboración de regulaciones e instituciones más estrictas vinieron precedidas de dos desastres terapéuticos, como el jarabe de sulfanilamida en 1937 en Estados Unidos y en 1954 en Francia con el Stalinon que causaron la muerte de más de 100 pacientes en cada caso (Dukes, 2006).

Sin embargo, no fue hasta el escándalo de la talidomida en los años 60, un hipnótico con efectos teratogénicos muy graves comercializado por la farmacéutica alemana Grünenthal para el tratamiento del insomnio, tensión y mareos durante el embarazo (Daemmrich, 2002), cuando, tanto en Europa como en Estados Unidos, se comenzaron a revisar las bases legales y científicas que regulaban la comercialización de medicamentos con el fin de salvaguardar la salud pública. En Europa, la Directiva 65/65/CEE fue el primer intento de armonización de los requerimientos para la comercialización de medicamentos para medicina humana y veterinaria en el espacio económico europeo (Sauer y Hankin, 1987).

Paralelamente a este esfuerzo regulador, se empezaba a poner de manifiesto la relación entre el uso de antibióticos como promotores de crecimiento en animales y la aparición de

resistencias antimicrobianas en humanos (Informe Swann en Soulsby, 2008). En concreto, se constató que el uso de dosis subterapéuticas de oxitetraciclina en animales contribuía al desarrollo de resistencias en humanos de *Salmonella entérica* Serovar Tiphimurium (Chopra y Roberts, 2001); Cogliani et al., 2011). Las recomendaciones del informe Swann provocaron la prohibición del uso de tetraciclina, penicilina y estreptomina como promotores de crecimiento en varios países de Europa a principio de los años 70. Este uso fue prohibiéndose a lo largo de los años, pero no fue hasta 2006 cuando la prohibición de cualquier clase de antibiótico como promotor de crecimiento en Europa fue total.

**Tabla 1: Prohibición de uso de promotores de crecimiento**

Fecha de prohibición	Antibióticos prohibidos como promotores de crecimiento
1972-1974	penicilina, estreptomina y tetraciclina
1997	avoparcina*
1999	espiramicina, tilosina, bacitracina de zinc y virginamicina
2006	monensina, avilamicina, salinomicina y flavomicina

La avoparcina es similar al antibiótico de uso en humanos vancomicina, por lo que su uso puede contribuir a la resistencia bacteriana de vancomicina en humanos (U.S. Government Accountability Office, 2011).

## 1.2 Marco regulador europeo sobre medicamentos veterinarios

El marco legal básico que regula la venta y uso de medicamentos veterinarios se estableció por primera vez en 1981 mediante la Directiva 81/851/CEE, mientras que la Directiva 81/852/CEE establecía los requisitos de las pruebas destinadas a garantizar la seguridad, la calidad y la eficacia de los medicamentos veterinarios comercializados en la Unión Europea (Woodward, 2005). Estas directivas sufrieron varias modificaciones desde el período 1985-2000, por lo que, en 2001, se unificaron en la Directiva 2001/82/CE. Junto con el Reglamento (CE) n.º 726/2004, son la base que regula la autorización, según diferentes procedimientos, la fabricación, la comercialización, el uso y la farmacovigilancia de los medicamentos veterinarios a lo largo de su vida útil.

La Tabla 2 resume los procedimientos mediante los cuales los medicamentos veterinarios pueden autorizarse en la Unión Europea (adaptado de Woodward, 2009).



**Tabla 2: Procedimientos de autorización de medicamentos veterinarios y establecimiento de límites máximos de residuos en la Unión Europea**

Procedimiento de Autorización y Establecimiento de LMR		
Nacional		Autorización limitada a un solo Estado y otorgada por la agencia reguladora del mismo
Descentralizado	Directiva 2001/82/CE (modificada por Directivas 2004/28/CE y 2009/9/CE)	La autorización se solicita de forma simultánea en varios países de la Unión Europea. Las distintas agencias evalúan el medicamento de forma coordinada, y una de ellas actúa como agencia coordinadora. La autorización es otorgada por las agencias reguladoras de cada Estado
Reconocimiento Mutuo		Cuando un medicamento tiene ya una autorización de comercialización comunitaria y se presenta una solicitud de reconocimiento de la misma en otros Estados de la Unión Europea. La autorización es otorgada por las agencias reguladoras de cada Estado
Centralizado	Reglamento (CE) No. 726/2004	Las solicitudes son evaluadas por la EMA/CVMP. Las autorizaciones son otorgadas por la Comisión Europea basada en las opiniones favorables del CVMP
Límite Máximo de Residuos (LRM)	Reglamento (CE) No. 470/2009	El establecimiento de los LMR es un proceso separado de la solicitud de autorización. La evaluación científica la realiza siempre el CVMP

Previamente a su autorización, se debe asegurar la calidad, la seguridad (del animal de destino, del usuario, del consumidor y del medioambiente) y la eficacia del medicamento. Los requerimientos técnicos de los estudios que deben realizarse se describen en diferentes guías científicas, las cuales proporcionan una visión armonizada de estos requisitos entre los diferentes países europeos.

Además, desde 1992, ningún medicamento destinado a animales de consumo puede ser autorizado en Europa si no tiene establecido el límite máximo de residuos (LMR), es decir, el fármaco y/o sus metabolitos farmacológicamente activos que puedan encontrarse residualmente en los alimentos de origen animal y que puedan suponer un riesgo para la salud. El Reglamento (CE) n.º 470/2009 establece los requisitos necesarios para establecer estos LMR, los cuales se fijan teniendo en cuenta las características toxicológicas,

microbiológicas, farmacológicas y mediante datos de depleción de los residuos del medicamento, que a su vez sirven como referencia para determinar el tiempo de espera, es decir, el tiempo que debe transcurrir desde la administración del fármaco hasta el sacrificio del animal. El en Reglamento (UE) n.º 37/2010 se especifican los LMR de sustancias farmacológicamente activas y cuyo uso está permitido en animales de consumo, así como una lista de sustancias prohibidas.

En los últimos años, toda la legislación relativa a medicamentos veterinarios está siendo revisada con el fin de facilitar la disponibilidad de medicamentos en toda la Unión Europea, reduciendo cargas administrativas y promoviendo la investigación, aunque su mayor reto es el de reducir el riesgo de resistencias antimicrobianas. En septiembre de 2014 la Comisión Europea publicó la propuesta de reglamento sobre los medicamentos veterinarios COM(2014) 558 final, la cual derogará la Directiva 2001/82/EC y, en consecuencia, el Reglamento (CE) n.º 726/2004 también se modificará según la COM( 2014) 557 final.

Entre otras cosas, la nueva regulación:

- Propone la obligatoriedad de recopilar datos sobre la venta y uso de antimicrobianos en cada país (hasta el momento realizado de manera voluntaria) los cuales serán analizados y reportados anualmente por la Agencia Europea del Medicamento, de manera que permitan prever posibles riesgos de resistencias a antimicrobianos.
- Permite a la Comisión Europea excluir o restringir el uso de determinados antimicrobianos en animales para preservar su efectividad en humanos.
- Establece que los antimicrobianos o combinaciones de ellos únicamente podrán ser autorizados tras una evaluación científica del riesgo-beneficio y además se podrán pedir estudios post-autorización para valorar si este riesgo-beneficio con respecto a la aparición de resistencias ha cambiado.
- Restringe el uso de antimicrobianos al estrictamente especificado en los RCP (Resumen de Características del Producto), los cuales deberán armonizarse entre los diferentes Estados.

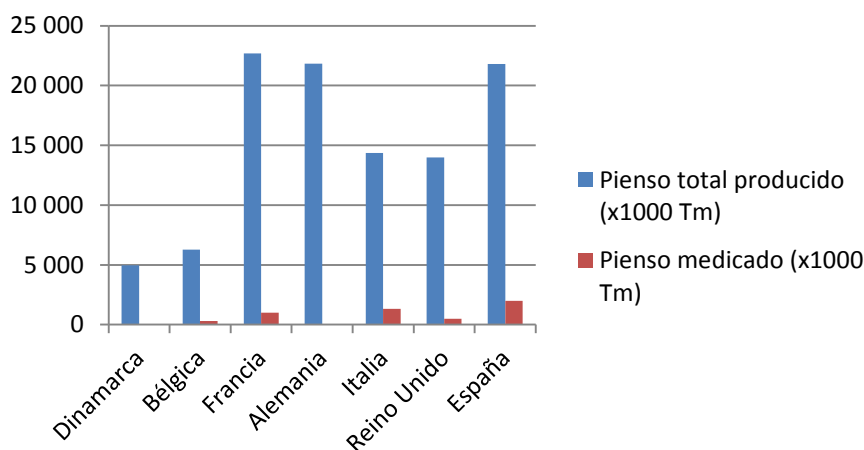
### 1.2.1 Uso y regulación de piensos medicamentosos

En Catalunya, del total de piensos producidos para animales de consumo en el 2012, un 18% corresponde a pienso medicamentoso. En el caso concreto del porcino, este porcentaje asciende a al 24%.

**Tabla 3: Producción de pienso medicamentoso y producción total de pienso en Catalunya por especies**

Especie de destino	Producción (Tm) de pienso medicamentoso en Catalunya (2011) <sup>a</sup>	Producción (Tm) de pienso en Catalunya (2012) <sup>b</sup>
Porcino	903.288	3.803.965
Conejos	85.990	101.007
Bovino	38.187	667.621
Aves	13.876	1.196.577
Ovino/Caprino	17.683	69.066
Équidos	36	95.968
<b>Total</b>	<b>1.059.059</b>	<b>5.934.204</b>

En el conjunto de España, este porcentaje oscila entre 9-14% de la producción total de piensos (2000-3000 Tm en el 2008). Además, en comparación con otros países, España, seguido de Italia y Francia son los que más piensos medicamentosos fabrican. En otros países de la Unión Europea como Dinamarca y Alemania, sin embargo, su fabricación es marginal.



**Figura 1: Producción total de piensos<sup>c</sup> en diferentes países europeos en 2008 en relación con la fabricación de piensos medicamentosos<sup>d</sup>**

<sup>a</sup> La vigilància i el control de medicaments veterinaris i els seus residus en animals i aliments d'origen animal a Catalunya. Informe anual. Anys 2011-2012 (Generalitat de Catalunya, 2013)

<sup>b</sup> Datos del *Servei d'Alimentació Animal i Seguretat de la Producció Ramadera*. Departament d'Agricultura (Generalitat de Catalunya, 2012c)

<sup>c</sup> Compound Feed Production (1989-2015) - Statistics - FEFAC Publications», 2015.

<sup>d</sup> Food Chain Evaluation Consortium (FCEC), (2010)

Estas asimetrías entre países pueden atribuirse a las diferencias en las transposiciones de la directiva Directiva 90/167/CEE, a requisitos legales que cada país ha ido añadiendo así como la costumbre de los veterinarios y ganaderos a otro tipo de administraciones orales, disponibilidad de equipos en la granja (por ejemplo, bombas de dosificación en agua de bebida) y diferencias en los costes de producción de los piensos medicamentosos (FCEC, 2010). La Directiva 90/167/CEE constituye el marco regulador mediante el que se establecen las condiciones de preparación, de puesta en el mercado y de utilización de los piensos medicamentosos en Europa y en España, transpuesta en España al Real Decreto 1409/2009. En Octubre de 2014 apareció una nueva propuesta de Reglamento del Parlamento Europeo y del Consejo relativo a la fabricación, la comercialización y el uso de piensos medicamentosos (COM(2014) 556 final) por la que se derogará la actual directiva. Entre otras cosas, la nueva norma pretende armonizar la legislación entre los diferentes países e introducir medidas más estrictas de uso de piensos medicamentosos. Además, dada la preocupación actual por el desarrollo de resistencias antimicrobianas, no admite el uso preventivo de pienso medicamentoso, establece unos límites de residuos de medicamentos por contaminación cruzada en piensos igual para todos los países y endurece las normas para prescripción y manipulación de piensos medicamentosos con antimicrobianos.

La COM(2014) 556 final define el pienso medicamentoso como *la mezcla de uno o varios medicamentos veterinarios (definidos en la Directiva 90/167/CEE como premezclas medicamentosas) o productos intermedios con uno o varios piensos, lista para alimentar directamente a los animales sin más transformación*. Según esta norma, el pienso medicamentoso únicamente puede fabricarse a partir de medicamentos veterinarios autorizados, siguiendo las instrucciones de la ficha técnica del medicamento y siempre que no haya posibilidad de interacción entre los medicamentos veterinarios y otros componentes del pienso que puedan afectar a la inocuidad o a su eficacia. Su uso está sujeto a prescripción veterinaria y debe estar justificado por motivos veterinarios. Además, el veterinario debe asegurarse de que no existen incompatibilidades, contraindicaciones o interacciones cuando se usen varios medicamentos.

### 1.3 Uso de antimicrobianos en medicina veterinaria

Los antimicrobianos son el grupo de medicamentos veterinarios más utilizado, representando el 70% de las toneladas de medicamentos veterinarios consumidos en Alemania en el año 2003 (SRU, 2007). La figura siguiente representa las ventas de antimicrobianos según su forma farmacéutica en la Unión Europea en el año 2011.

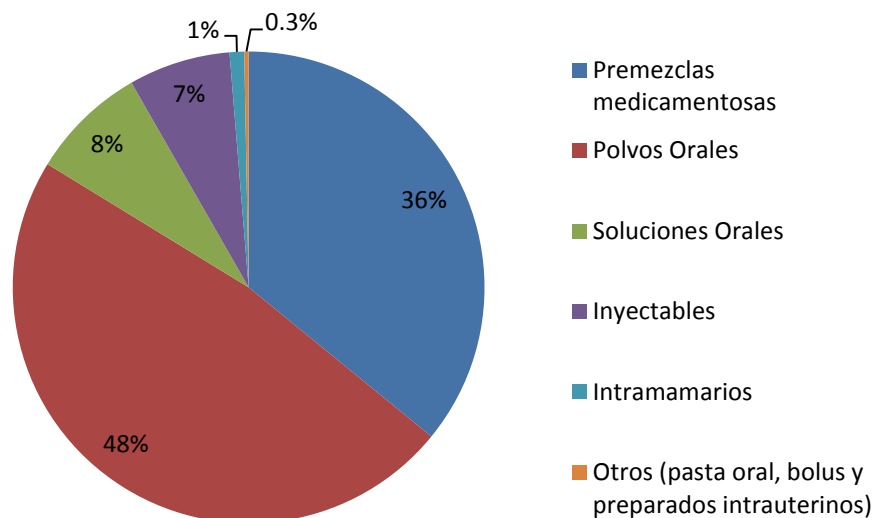


Figura 2: Distribución de las ventas, en mg/PCU<sup>e</sup> por forma farmacéutica de antibióticos en animales de consumo en 25 países de la Unión Europea en 2011<sup>f</sup>

La vía de administración oral (en pienso o en agua) es la más utilizada en animales de consumo por razones prácticas, ya que permite el tratamiento simultáneo de un gran número de animales y por periodos relativamente prolongados (Ungemach et al., 2006). En el caso concreto de España, más del 95% de los tratamientos en estas especies son orales, representando las premezclas medicamentosas un 66% de las ventas de antimicrobianos (Third ESVAC report, European Medicines Agency, 2013). En porcino, el uso en pienso puede representar un 80% del consumo total de antimicrobianos (Burch et al., 2009). Los antimicrobianos son las sustancias más utilizadas en la elaboración de premezclas medicamentosas. En España representaban el 74% de las premezclas registradas para el

<sup>e</sup> PCU: Unidad de corrección poblacional, utilizada para comparar las ventas en función de la población animal de cada país y que tiene en cuenta el peso medio estimado durante el tratamiento, el número de animales sacrificados, número de animales vivos y los exportados (EMA/238630/2011).

<sup>f</sup> Third ESVAC report, 2013

año 2009 (AEMPS, 2008). La mayoría están basadas en principios activos antiguos y el número de nuevas premezclas autorizadas por año es pequeño (por ejemplo, en España se registraron sólo ocho nuevas premezclas en el año 2008) y suelen ser de productos genéricos, sugiriendo que los tratamientos a través del pienso están muy estandarizados (FCEC, 2010).

Desde el punto de vista de la salud pública, la administración de antimicrobianos en pienso ofrece ciertas ventajas frente a la administración en agua ya que las fábricas de pienso deben cumplir requisitos estrictos en relación a la homogeneidad, estabilidad y trazabilidad de los piensos medicamentosos a la vez que existe un menor riesgo de sobredosificación intencionada porque el pienso es manipulado por poco personal el cual debe estar cualificado para ello (RD 1409/2009). En cambio, la administración en agua está condicionada por la calidad físico química y microbiológica de la misma (Medel, 2013), lo cual puede alterar la estabilidad y solubilidad de las medicaciones e incluso interferir en su eficacia. Además, el riesgo de sub- o sobredosificación es mayor porque la correcta administración del medicamento depende de la profesionalidad de cada ganadero y de que la granja disponga de unos sistemas adecuados para su uso (depósitos de agua, bombas de dosificación).

Sin embargo, en relación a la salud pública, también existen ciertas desventajas, como las contaminaciones cruzadas entre piensos diferentes fabricados consecutivamente. Éstas se producen cuando trazas de medicamentos quedan adheridos temporalmente a las estructuras de la línea de producción de la fábrica de piensos, además de que las propiedades electrostáticas de algunas formulaciones hacen muy difícil su eliminación total (Smith, 1993). Actualmente, la legislación vigente las considera inevitables pero exige prevenirla y reducirla al máximo, además de exigir una vigilancia adecuada para mantener unos niveles aceptables (Reglamento (CE) 183/2005, Real Decreto 1409/2009).

Otra desventaja está en que, aunque la dosificación del medicamento en el pienso sea muy precisa, los animales pueden sobredosificarse o subdosificarse porque esta dosificación se hace por cada 1000 kg de pienso en lugar de dosificar en función del peso de los animales (Timmerman et al., 2006). Además, la dosis real que ingiere el animal está condicionada por la diferente ingesta de pienso que puede darse según el status sanitario del animal o

jerarquías dentro del grupo (Lees et al., 2009). Diferentes estudios concluyen que con las medicaciones orales es más frecuente la subdosificación (Timmerman et al., 2006; Callens et al., 2012; Trauffler et al., 2014) la cual, asociado al hecho de que los tratamientos orales suelen ser largos, favorece el desarrollo de bacterias resistentes a antimicrobianos (Ungemach et al., 2006; Love et al., 2011).

### **1.3.1 Uso de antimicrobianos en porcino**

La Directiva 2001/82/CE define los medicamento veterinarios como “toda sustancia o combinación de sustancias que se presente como poseedora de propiedades curativas o preventivas con respecto a las enfermedades animales que pueda administrarse al animal con el fin de restablecer, corregir o modificar las funciones fisiológicas del animal ejerciendo una acción farmacológica, inmunológica o metabólica, o de establecer un diagnóstico médico”. Así, y según la legislación vigente, los antimicrobianos pueden utilizarse tanto para curar (terapéuticos) como para prevenir (profilácticos) una enfermedad infecciosa.

En la práctica, existe otro modo de uso llamado *metafilaxis*, donde animales clínicamente sanos pertenecientes al mismo grupo de animales con síntomas clínicos, son tratados con antimicrobianos (Aarestrup, 2005), aunque otros autores lo consideran simplemente una manera de profilaxis en presencia de enfermedad (Guardabassi y Kruse, 2009). La administración en pienso de antimicrobianos ha facilitado su uso profiláctico o metafiláctico en porcino, ya que permite incluir estos tratamientos en programas de medicación estratégicos para controlar enfermedades evitando la manipulación de los animales (Burch, 2012). Callens et al. (2012) y Trauffler et al. (2014) reportaron este uso profiláctico/metafiláctico de antimicrobianos como el más importante en porcino (98% y el 46% de las granjas de engorde encuestadas en Bélgica y Austria respectivamente). Además, aunque el uso de antimicrobianos como promotores de crecimiento está prohibido en Europa desde 2006, no siempre la distinción entre promotor de crecimiento y prevención de enfermedad está clara, porque a dosis subterapéuticas observadas en tratamientos profilácticos se puede tener efectos en el crecimiento de los animales (FAO, 2011).

Sin embargo, tanto el uso metafiláctico como el profiláctico entran en contradicción con las recomendaciones de diferentes instituciones, entre ellas la Organización de las

Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, en cuya guía de Buenas Prácticas Agrícolas aboga por minimizar el uso no terapéutico de los antibióticos promoviendo la prevención mediante programas vacunales y mejoras de manejo e instalaciones (FAO, 2003).

### 1.3.2 Fases del engorde en porcino relacionadas con el uso de antimicrobianos

Desde el nacimiento hasta el sacrificio, el cerdo pasa por diferentes etapas productivas que constituyen su ciclo productivo, representado en la siguiente figura.

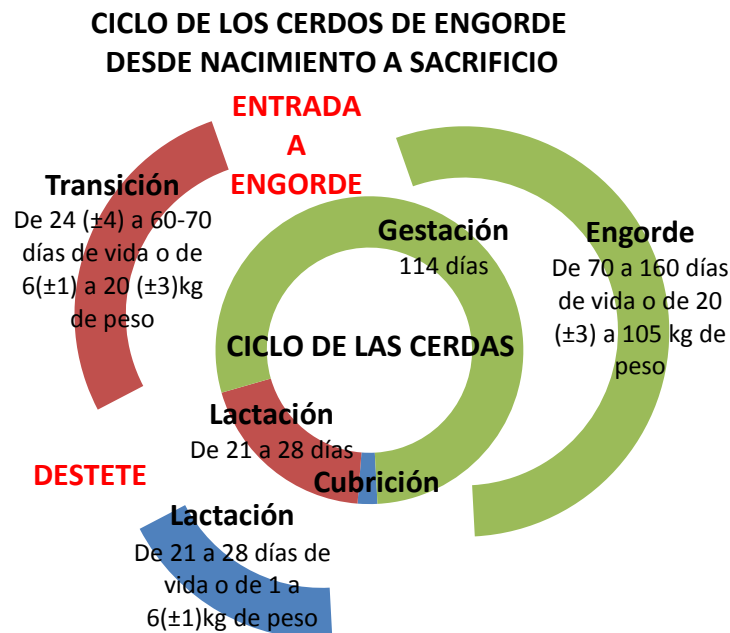


Figura 3: Ciclo productivo porcino

En cada una de estas fases se utilizan diferentes tipos de piensos con el fin de cubrir las necesidades nutricionales de cada momento. La fase de lactación dura hasta los primeros 21 o 28 días de vida. En ella, los lechones están alojados con las madres y su principal alimento es la leche, aunque se les suele ofrecer también alimento sólido a partir de los pocos días de vida, el cual puede ser un pienso especialmente diseñado para esta etapa, denominado lactoiniciador o puede coincidir con el primero que se administra durante la fase de destete/transición. De esta manera, los lechones van adaptando su sistema digestivo a los ingredientes de origen vegetal de los piensos.



El destete separa la lactación de la fase de transición. Es un punto crítico para el lechón porque se realiza de manera abrupta, su sistema digestivo todavía no está adaptado a dieta sólida y además coincide con una caída de la inmunidad pasiva procedente del calostro y la leche materna. Estas circunstancias se ven agravadas por el estrés que supone separarlos de la madre y alojarlos en otras instalaciones donde se mezclan con otras camadas lo que conlleva un riesgo muy elevado de infecciones bacterianas. En consecuencia, el uso de antimicrobianos en los piensos de transición es una práctica habitual, los cuales actuarían previniendo las posibles infecciones, reduciendo el consumo de nutrientes por parte de la flora intestinal, incrementando la absorción de nutrientes en el intestino y reduciendo los efectos negativos de los metabolitos microbianos como la inflamación (Niewold, 2007). En esta fase los programas de alimentación de lechones suelen realizarse con dos tipos de pienso que se ofrecen *ad libitum*. El primer pienso, denominado prestarter suele utilizarse unos 15 días postdestete o hasta los 8-11 kg de peso. Es de fácil digestión, muy palatable y con un alto contenido en derivados lácteos. En cambio, el pienso starter se ofrece gradualmente hasta los 60-70 días de vida en que los lechones alcanzan los 20-25 kg de peso y tiene como objetivo conseguir un crecimiento óptimo y una buena adaptación al pienso de engorde.

El engorde tiene una duración aproximada de 3-3.5 meses donde los animales son alimentados con varios piensos (entre dos y cuatro), dependiendo del tipo de empresa, con lo que se pretende mejorar la eficiencia, es decir, conseguir que los cerdos desarrollen su potencial genético al mínimo coste y reducir la contaminación ambiental. Al inicio de esta etapa, los lechones son realojados en otras naves o granjas por lo que vuelven a ser mezclados con animales de diferentes orígenes, además pueden llegar al engorde a diferentes edades, dependiendo de las instalaciones de las granjas. Por ello, es habitual el uso de un pienso de precebo o de entrada a engorde que suele ser medicado con antimicrobianos y antiparasitarios y administrarse *ad libitum* hasta los primeros 15 días de esta fase. El objetivo es evitar patologías digestivas y/o respiratorias derivadas de la mezcla de animales. El resto de piensos utilizados en esta fase no suelen ir medicados con antimicrobianos de manera rutinaria.

Las cerdas reproductoras suelen alimentarse con un pienso único durante la gestación que se administra de manera restringida y cuya cantidad varía en función de la etapa de

gestación. En general, durante el período de lactación las cerdas se alimentan con un único pienso con alta concentración de energía y nutrientes con el objetivo de aumentar la ingesta voluntaria y contrarrestar las demandas energéticas para la producción de leche. En animales reproductores no suele ser habitual la medicación sistemática de los piensos, excepto en el caso de las cerdas gestantes, donde se llevan a cabo unos “períodos de blanqueo” que consisten en la administración de pienso medicado con antimicrobianos y/o antiparasitarios unos 15 días consecutivos durante la gestación de las cerdas. Suelen ser tratamientos en sábana, es decir, se medican todos los animales de la nave durante un mismo período, independientemente del momento de la gestación en el que se encuentren.

#### **1.4 Resistencias antimicrobianas: acciones a nivel europeo**

En los países desarrollados las resistencias a antimicrobianos (RAM) representan un importante problema de salud pública y de salud animal que además genera pérdidas económicas millonarias. Se estima que en la Unión Europea unas 25000 personas murieron en 2007 por infecciones causadas por bacterias resistentes (ECDC/EMEA, 2009), siendo los países del sur y este de Europa los que tienen niveles de resistencias más elevados (ECDC, 2013).

La mayoría de las enfermedades infecciosas en humanos, a excepción de las zoonosis, son causadas por patógenos diferentes a los que producen infecciones en animales, por tanto, la mayoría de las resistencias antimicrobianas en humanos se deben al uso de antimicrobianos en humanos. Sin embargo, en Europa, el consumo medio de antimicrobianos es mayor en animales (144 mg/kg de biomasa) que en humanos (116 mg/kg biomasa), según datos del primer informe conjunto ECDC/EFSA/EMA (2015). Según este informe, que engloba a 26 países europeos, sólo en ocho de ellos el consumo es mayor en animales que humanos. En el caso de España, se reportaron 242 mg/kg en animales frente a los 108 mg/kg en humanos. Sin embargo, en esta cifra no se incluyó el consumo hospitalario, el cual en España está por encima de la media Europea, situándose como el quinto país que más consume en hospitales (Ministerio de Sanidad, 2015).

Los animales, especialmente los de consumo, contribuirían a la aparición de estas resistencias principalmente por dos vías:

- Por consumo de alimentos contaminados por bacterias resistentes, como en el caso de cepas resistentes de *Salmonella*, *Campylobacter* y *E.coli* (Mølbak, 2004). Esta contaminación suele producirse por el contacto de las canales con bacterias intestinales durante el sacrificio de los animales (Aarestrup y Wegener, 1999).
- Por contacto directo con animales portadores. Aunque hace algunos años podía parecer poco relevante (R. J. Bywater, 2004), cada vez hay más evidencias de que esta vía juega un importante papel en la transmisión de resistencias, como en el caso de *Staphylococcus aureus* resistente a metacilina (MRSA en sus siglas en inglés). En Holanda, se describió una prevalencia de esta bacteria 760 veces mayor en trabajadores de granjas porcinas que en pacientes de hospitales (Voss et al., 2005) y más recientemente en Dinamarca se han descrito casos de transmisión por contacto con vacas y ovejas (Petersen et al., 2013).

Además, algunas bacterias patógenas para animales que no afectan a humanos pueden transferir genes de resistencia a patógenos que sí les afectan (Jensen et al., 2009).

Ante la evidencia de que la única manera de actuar frente a las resistencias antimicrobianas es englobando la salud humana y la animal, a partir del año 2011, diferentes instituciones y agencias europeas acordaron doce acciones marco que debían desarrollarse en los diferentes estados de la Unión durante el período 2011-2015. El objetivo de estas acciones va encaminado a prevenir y controlar las resistencias y a asegurar la disponibilidad de antimicrobianos efectivos para los humanos y los animales (COM (2011) 748 final).

**Tabla 4: Adaptada del Plan de acción contra la amenaza creciente de resistencias antimicrobiana (COM (2011) 748 final)**

Acciones en Salud Humana	Acciones en Salud Animal	Acciones Comunes
<b>1:</b> Promover el uso apropiado de antimicrobianos en todos los estados de la Unión Europea	<b>2:</b> Reforzar el marco normativo sobre medicamentos veterinarios y piensos medicamentosos	<b>8:</b> Desarrollar y /o fortalecer la cooperación internacional para la prevención y control de las RAM en todos los sectores
<b>4:</b> Reforzar la prevención y control de infecciones en hospitales y centros de salud	<b>3:</b> Presentar recomendaciones para el uso prudente en medicina veterinaria	<b>11:</b> Reforzar y coordinar los esfuerzos de investigación sobre las causas de aparición de las RAM, nuevos métodos diagnósticos, vacunas, etc.
<b>6:</b> Promover la investigación y el desarrollo de nuevos antimicrobianos	<b>5:</b> Introducir herramientas legales para mejorar la prevención y el control de las infecciones en los animales	<b>12:</b> Promover campañas educativas para la población en general y asegurar que el conocimiento de las RAM se incluyen en los programas de formación para profesionales de la salud animal y humana
<b>9:</b> Fortalecer los sistemas de vigilancia sobre las RAM y el consumo de antimicrobianos en medicina humana	<b>7:</b> Promover esfuerzos para analizar la necesidad de nuevos antimicrobianos en medicina veterinaria	
	<b>10:</b> Fortalecer los sistemas de vigilancia sobre las RAM y el consumo de antimicrobianos en medicina veterinaria	

En 2014, siguiendo el mandato europeo, España ha desarrollado y puesto en marcha el *Plan estratégico y de acción para reducir el riesgo de selección y diseminación de resistencias a los antibióticos* (AEMPS, 2014), estructurado en seis líneas estratégicas, comunes para medicina humana y veterinaria, subdivididas en medidas y acciones concretas (Tabla 5).

**Tabla 5: Líneas estratégicas, medidas y acciones en salud animal adaptado del *Plan estratégico y de acción para reducir el riesgo de selección y diseminación de resistencias a los antibióticos* (AEMPS, 2014)**

Líneas Estratégicas	Medidas	Acciones en Salud Animal
<b>I:</b> Vigilancia del consumo y de la resistencia a antibióticos	I.1: Monitorización del consumo de antibióticos	<ul style="list-style-type: none"> <li>Mejorar los sistemas de vigilancia de las ventas de anti bióticos, incluyendo datos a nivel de distribuidores.</li> <li>Desarrollo e implantación de la receta electrónica y de sistemas informáticos de control de tratamientos ligados a la explotación.</li> <li>Asegurar la explotación y análisis de los datos a nivel local, regional y nacional y el retorno de información.</li> </ul>
	I.2: Mejorar la vigilancia de las resistencias a antibióticos	<ul style="list-style-type: none"> <li>Análisis y explotación de los datos de resistencia bacteriana y su evolución en bacterias zoonóticas e indicadoras, con un análisis particular de la RAM en expansión.</li> <li>Cruzar la información de RAM y de consumo para hacer una presentación bienal de los resultados, identificando los pares de anti biótico y bacteria especialmente representativos.</li> </ul>
	I.3: Control de uso de antibióticos críticos	<ul style="list-style-type: none"> <li>Identificar y listar las clases de anti bióticos considerados críticos para proceder a una vigilancia específica de su consumo y aparición de resistencias.</li> <li>Limitar la prescripción de estos anti bióticos cuya efectividad haya que preservar especialmente</li> </ul>
	I.4: Participar en proyectos europeos e internacionales para intercambiar información	<ul style="list-style-type: none"> <li>Revisión continuada de la actualidad europea e internacional sobre las RAM y sobre el uso racional de antibióticos, con el objetivo de difundir información y que ésta esté disponible para los interesados.</li> <li>Contribuir en los distintos proyectos europeos sobre el consumo y el uso de antibióticos y redes de vigilancia de RAM (ESVAC, monitorización en patógenos zoonóticos)</li> </ul>
<b>II:</b> Controlar las resistencias bacterianas	II.1: Controlar la difusión de resistencias	<ul style="list-style-type: none"> <li>Desarrollar la red de vigilancia de bacterias patógenas en animales. Establecer un plan por especies animales, identificando la vía de implementación.</li> <li>Identificar laboratorios colaboradores y/o de referencia para el aislamiento e identificación de bacterias patógenas resistentes a anti bióticos.</li> </ul>
	II.2: Diseñar y difundir herramientas para la promoción de las buenas prácticas de uso de antibióticos	<ul style="list-style-type: none"> <li>Desarrollar de forma más amplia un apartado específico de buen uso de antibióticos, para cada especie animal en las guías de uso responsable.</li> <li>Identificar si se necesitan desarrollar otras guías específicas ( p.ej. peces, aves de cría de caza)</li> <li>Promover que los tratamientos antibióticos se basen en diagnósticos microbiológicos y pruebas de sensibilidad</li> <li>Desarrollar directrices en las que se den recomendaciones específicas de uso de determinados antibióticos como de “primera línea”, “segunda línea” o última línea” en relación con infecciones específicas.</li> </ul>
	II.3: Elaborar directrices para la prescripción excepcional de antibióticos	<ul style="list-style-type: none"> <li>Desarrollar directrices para la prescripción excepcional de antibióticos</li> </ul>
	II.4: Limitar el uso profiláctico de antibióticos a casos con necesidades clínicas definidas	<ul style="list-style-type: none"> <li>Se identificarán por especies animales las enfermedades donde sea imprescindible el uso profiláctico de anti bióticos, y se incluirán en el plan</li> <li>Se controlará el uso de anti bióticos en condiciones diferentes a las especificadas en las condiciones de autorización</li> </ul>

<b>III:</b> Identificar e impulsar medidas alternativas y/o complementarias de prevención y tratamiento	III.1: Fomentar la mejora de las medidas de higiene, manejo y bienestar animal	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Promover la difusión y el uso de las guías de buenas prácticas ganaderas que ya existen, e identificar y desarrollar las que aún no estén realizadas y sean necesarias.</li> <li>• Modificar las guías existentes para incluir recomendaciones des tinadas exclusivamente a los ganaderos, de forma que se explique de manera clara y comprensible como deben administrarse y/o prepararse (en caso de medicamentos administrados vía oral) y/o aplicarse los anti bióticos, para garantizar su uso adecuado.</li> <li>• Establecer mecanismos efectivos para que los ganaderos reciban y utilicen las guías.</li> </ul>
	III.2: Promover el desarrollo y uso de pruebas de sensibilidad y métodos de diagnóstico rápido	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Promover el uso de pruebas de diagnóstico microbiológico.</li> <li>• Normalización de las pruebas de sensibilidad (antibiogramas) y su interpretación</li> <li>• Promover el uso de pruebas de diagnóstico rápido</li> </ul>
	III.4: Fomentar la adopción de medidas para mejorar las condiciones de administración de los productos antiguos que contienen anti bióticos no críticos	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Encontrar estrategias para facilitar a los laboratorios que mejoren las condiciones de administración de estos grupos de moléculas de anti bióticos para optimizar la eficacia, especialmente la mejora de los regímenes de tratamiento</li> </ul>
<b>IV:</b> Definir prioridades en materia de investigación	IV.1: Desarrollar y promover una estrategia común en materia de investigación	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Promover la investigación para mejorar el conocimiento de los mecanismos de RAM.</li> <li>• Promover la investigación para mejorar el conocimiento de las causas y las consecuencias de la aparición y diseminación de la RAM así como de las medidas encaminadas a su control y a la mejora en el uso de los anti bióticos.</li> <li>• Promover el desarrollo de anti bióticos con un valor añadido frente a los ya comercializados.</li> <li>• Promover la investigación de alternativas a los antibióticos en el campo de la inmunidad</li> <li>• Apoyar la investigación de nuevos antibióticos, restringidos para uso en medicina veterinaria, pero no críticos para medicina humana</li> <li>• Promover el desarrollo de nuevos métodos de detección y caracterización de RA.</li> <li>• Estudiar mecanismos de incentiación a los proyectos de investigación basados en las necesidades identificadas</li> <li>• Mejorar el conocimiento sobre los aspectos determinantes que conducen a un alto consumo de anti bióticos en granjas</li> </ul>
	IV.2: Desarrollo de la investigación epidemiológica y socioeconómica	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Promover el uso de pruebas de diagnóstico microbiológico.</li> <li>• Normalización de las pruebas de sensibilidad (antibiogramas) y su interpretación</li> <li>• Promover el uso de pruebas de diagnóstico rápido</li> </ul>

<b>V:</b> Formación e información a los profesionales sanitarios	V.1: Movilizar a los profesionales de la salud	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Informar a los profesionales sobre los riesgos del desarrollo de resistencia a los antibióticos.</li> <li>• Dar a conocer a los profesionales los beneficios individuales y colectivos del uso racional de los antibióticos.</li> <li>• Promover las comunicaciones en foros científicos acerca del control de la resistencia a anti bióticos y del uso prudente de los mismos.</li> </ul>
	V.2: Fomentar la formación de los profesionales de la salud	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Promover la formación de los profesionales sanitarios en todos los periodos de formación: universitaria, especializada y continuada. Completar la formación en todos sus ciclos (pregrado, grado, postgrado, especialización).</li> <li>• Asegurar que en los programas oficiales de las especialidades en Ciencias de la Salud se garantice la adquisición de competencias necesarias para mejorar el uso racional de antibióticos y reducir las resistencias microbianas</li> </ul>
	V.3: Desarrollar programas de formación continuada de los profesionales de la salud con criterios de homogeneidad, en aquellas materias relacionadas con la RAM	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Incluir el uso racional de anti bióticos en los módulos de formación continuada</li> <li>• Favorecer las iniciativas ya existentes para que lleguen al número máximo de profesionales de la salud</li> <li>• Completar la formación continuada en Ciencias de la Salud y disciplinas relacionadas (Medicina, Odontología, Farmacia, Enfermería, Veterinaria)</li> </ul>
	V.4: Desarrollar la autoevaluación de los prescriptores	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Definir las modalidades de evaluación de las prácticas de prescripción de anti bióticos y de las acciones de mejora, y proponer un método elaborado y validado por las autoridades sanitarias</li> <li>• Integrar en los programas de prescripción la lista de antibióticos que necesitan una reserva especial con un control específico</li> <li>• Desarrollar guías de buenas prácticas de prescripción de antibióticos en veterinaria, con medidas específicas adaptadas a cada especie, y un protocolo de tratamiento y metafilaxis de enfermedades bacterianas</li> </ul>
<b>VI:</b> Comunicación y sensibilización de la población en su conjunto y de subgrupos de población	VI.1: Campañas para la población en general	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Identificar las campañas de comunicación ya realizadas y explorar la continuidad de campañas de comunicación para el uso racional de antibióticos que hayan mostrado un impacto positivo en la reducción de la RAM.</li> <li>• Utilizar la jornada europea de sensibilización del 18 de noviembre para potenciar el uso racional de antibióticos mediante acciones dirigidas a los profesionales y al público general</li> <li>• Publicar regularmente artículos en prensa firmados por líderes de opinión reforzando los temas de las campañas</li> <li>• Establecer y difundir una plataforma de información para los consumidores.</li> </ul>
	VI.2: Información específica para subgrupos de población	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ganaderos</li> <li>• Dueños de mascotas</li> </ul>

A raíz de este plan de acción europeo contra las resistencias antimicrobianas se han desarrollado directrices y normas para contribuir al desarrollo de las acciones estratégicas. Por ejemplo, la 2015/C 299/04 describe las directrices para el uso prudente de antimicrobianos en medicina veterinaria, según la acción número 3 del plan y donde, entre otras cosas, se aboga por una utilización más racional y selectiva de los antimicrobianos, el fomento de la prevención e higiene en las granjas, el uso sólo en casos diagnosticados y preferiblemente después de la realización de pruebas de sensibilidad, así como evitar tratamientos masivos, profilácticos y con antimicrobianos de amplio espectro. Otra norma desarrollada para ayudar en la ejecución del plan, concretamente de la acción número 10, es la Decisión 2013/652/UE, que establece normas más detalladas para la vigilancia de las RAM y trata de armonizar el modo en que los datos son recogidos y reportados por los diferentes Estados de la Unión para favorecer su comparación.

Paralelamente, la Agencia Europea del Medicamento puso en marcha en 2009 el proyecto ESVAC (European Surveillance of Veterinary Antimicrobial Consumption) en el que los diferentes países europeos deben reportar los datos de consumo de antimicrobianos en animales. En España esta información se obtiene de los distribuidores de medicamentos, los cuales están obligados a reportarlos, y de las empresas farmacéuticas que los fabrican, que lo hacen de manera voluntaria.

Los informes que se obtienen de estas dos iniciativas están encaminados a evaluar la eficacia de los antimicrobianos y a correlacionar su uso con la aparición de resistencias. Sin embargo, hasta el momento, los datos de consumo de los que se dispone se calculan en base a las ventas de cada antimicrobiano (no a su consumo) y engloba a todas las especies (Moreno, 2014). Además, se expresan en mg de principio activo/kg de PCU (o unidad de corrección poblacional). Esta unidad, puramente técnica, es una estimación del peso durante el tratamiento de los animales vivos y los sacrificados en cada país. Sólo con estos datos (expresados en mg/kg y sin separar por especie) pueden derivarse conclusiones erróneas ya que no se tienen en cuenta ni que el uso de antimicrobianos difiere mucho entre especies (por ejemplo es mucho menor su uso en ovejas y cabras con un sistema de producción extensivo que en cerdo, cuya producción se realiza de manera intensiva) ni la importancia relativa de cada tipo de producción en el cálculo de la PCU al comparar entre países (Bondt et al., 2013).



Con la intención de subsanar estas deficiencias, el proyecto ESVAC contempla que en los próximos años se puedan conseguir, además de los datos de ventas, datos de consumo por especie y que estas se calculen con unidades técnicas que permita la comparación entre países (European Medicines Agency, 2016). En el caso concreto del porcino, ESVAC realizó una prueba piloto en 10 países de la Unión (entre ellos España) y en 46 granjas porcinas entre 2014-2015, para comprobar si los protocolos y formularios de recogida de datos de consumo de antimicrobiano (incluido el pienso medicamentoso) son eficaces. Los resultados preliminares de esta prueba indican que es posible obtener datos de consumo fiables recopilados a nivel de granja y a través de las prescripciones veterinarias. Sin embargo, todavía queda por definir si este consumo se relaciona con el número de animales producidos al año o por la media de cerdos de cada categoría presentes en la granja por día.

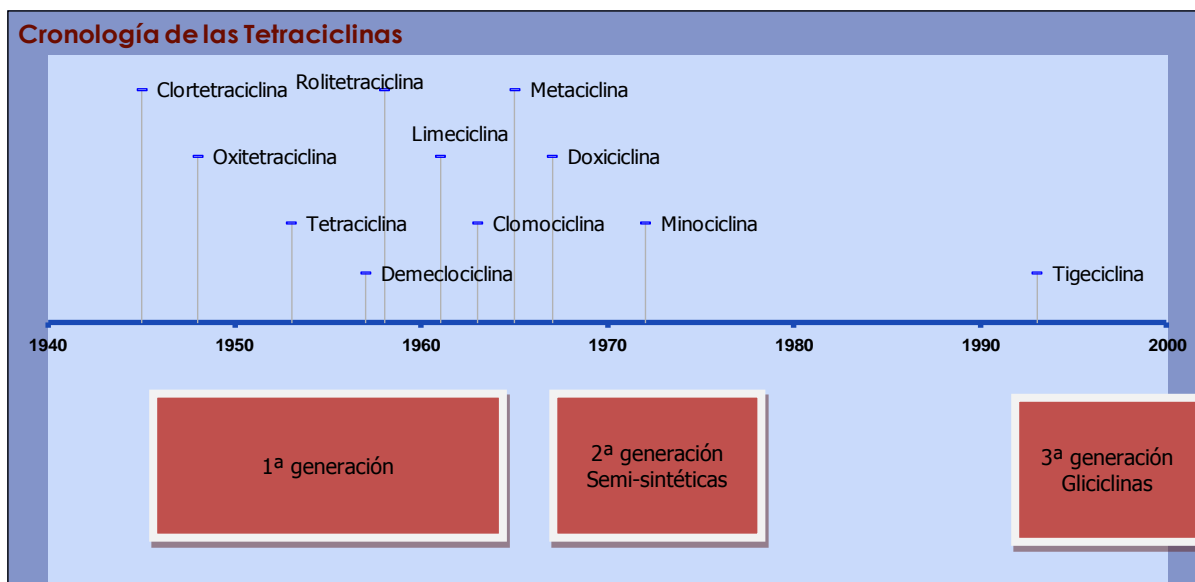
Con los datos de consumo y de resistencias de antimicrobianos en animales y humanos recopilados por diferentes agencias europeas durante los años 2011-2012, se editó el primer informe conjunto que analiza estas relaciones (ECDC/EFSA/EMA, 2015). Aunque con limitaciones debido al uso de diferentes sistemas para recopilar estos datos, sí se pudo constatar una relación positiva entre el consumo de antimicrobianos y la aparición de resistencias en animales de producción, sobre todo en el caso de *E. coli* aunque también para *Salmonella spp.* y *Campylobacter spp.* Además, se observó también una relación positiva entre el consumo de macrólidos en animales de producción y la aparición de resistencias en *Campylobacter spp.* aislados de infecciones humanas y entre el consumo de tetraciclinas, principalmente en cerdos y terneros, y la aparición de resistencias en *Salmonella typhimurium* y *Campylobacter spp.* aislados de humanos.

## 1.5 Clortetraciclina

Las tetraciclinas son el grupo de antimicrobianos más utilizado en veterinaria, a lo cual claramente ha contribuido su amplio espectro de acción frente a bacterias gram-positivo y gram-negativo, así como micoplasmas y otros microorganismos, además de los mínimos efectos adversos que producen. La clortetraciclina (CTC) fue la primera de las tetraciclinas que se descubrió allá en la década de 1940 y recibió el nombre de *Aureomicina* al ser producido por una actinobacteria dorada a la que se denominó *Streptomyces aureofaciens*. En 1949, fue descubierta la oxitetraciclina (OTC) o *Terramicina*, producida por *Streptomyces rimosus*.

Durante la segunda mitad del siglo XX fueron apareciendo otras tetraciclinas tanto naturales como semisintéticas con el fin de mejorar sus características farmacocinéticas, de seguridad y de eficacia (Chopra y Roberts, 2001).

**Tabla 6: Cronología de aparición de las tetraciclinas**



### 1.5.1 Características fisicoquímicas

La estructura química de la clortetraciclina  $\{(4S,4aS,5aS,6S,12aS,Z)-2-[amino(hydroxy)methylene]-7-chloro-4-(dimethylamino)-6,10,11,12a-tetrahydroxy-6-methyl-4a,5,5a,6-tetrahydrotetracene-1,3,12(2H,4H,12aH)-trione\}$  (Reeves, 2011) se presenta en la figura 4. Como todas las tetraciclinas, su estructura básica consta de un núcleo tetracíclico octahidronaftaleno a los que están unidos grupos funcionales que le confieren sus propiedades antibacterianas y farmacológicas.

Es una sustancia amarga e inodora, de color amarillo y estable en forma de polvo. Es poco soluble en agua pero soluble en soluciones de hidróxidos alcalinos y carbonatos, ligeramente soluble en alcohol y prácticamente insoluble en acetona, cloroformo, dioxano y éter (USP, 2003). Se presenta normalmente en forma de sales ácidas de sodio o clorhidrato para aumentar su solubilidad. Al contrario que otras tetraciclinas, es particularmente inestable en soluciones neutras o alcalinas (pH superiores a 7.0) (del Castillo, 2013) y pierde la mayor parte de su actividad en un día en solución acuosa neutra.

### 1.5.2 Mecanismo de acción

La clortetraciclina presenta un efecto bacteriostático basado en su unión reversible al ribosoma bacteriano con la que se detiene la síntesis proteica. Aunque los ribosomas bacterianos tienen sitios de unión de baja afinidad también en la subunidad 50S, presentan un sitio de unión de alta afinidad en la subunidad 30S que es la que conduce al efecto antibacteriano al impedir la unión del complejo aminoacil ARNt al sitio aceptor (A) del ribosoma bacteriano (Chopra et al., 1992). De esta manera evita la incorporación de aminoácidos durante la síntesis de proteínas que se produce durante los procesos de reproducción y crecimiento celular.

Antes de llegar al ribosoma, la clortetraciclina debe atravesar uno o más sistemas de membranas, en función de si se trata de un organismo gram-positivo o gram-negativo, mediante un mecanismo doble, primero, atraviesa la membrana externa a través de canales hidrófilos de porinas formando un complejo reversible con un catión metálico (probablemente magnesio) cargado positivamente y que se disocia en el periplasma. Una vez allí, la tetraciclina en forma electroneutra y más lipofílica entra en el citosol, a través de la membrana citoplasmática mediante un mecanismo dependiente de energía, para unirse al ribosoma (Chopra y Roberts, 2001).

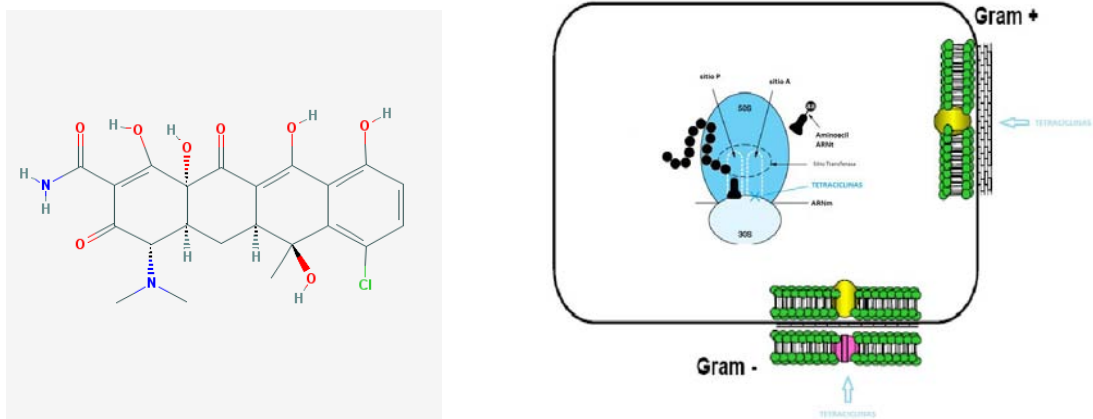


Figura 4: Estructura química de la clortetraciclina y mecanismo de acción<sup>g</sup>

Además de actuar sobre la síntesis proteica, las tetraciclinas inhiben algunas reacciones bioquímicas de las bacterias, como la fosforilación oxidativa y la oxidación de la glucosa.

<sup>g</sup> Adaptado de Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 11th edition. New York: McGraw-Hill (Goodman, L. S., Gilman, A., Brunton, L. L., Lazo, J. S., & Parker, 2006)

Además pueden quelar el magnesio, el cual es necesario para mantener la integridad ribosomal de la célula bacteriana.

### 1.5.3 Actividad antibacteriana

La clortetraciclina presenta un amplio espectro de actividad contra microorganismos implicados en procesos entéricos y respiratorios en el cerdo que incluye bacterias Gram-positivas y Gram-negativas, así como Rickettsia, Mycoplasma, Chlamydia y algunos protozoos (Baxter y McKellar, 1995).

La tetraciclina se ha considerado la molécula representativa del grupo en cuanto a la susceptibilidad antimicrobiana, al ser más estable en medios de cultivo (Tabla 7). No obstante, es posible que la potencia antimicrobiana de la clortetraciclina puede estar subestimada, especialmente para organismos de crecimiento lento como *Mycoplasma*, ya que es mucho menos estable en medios de cultivo (del Castillo, 2013). Además, se ha demostrado que otros patógenos respiratorios del cerdo como *Actinobacillus pleuropneumoniae* o *Pasteurella multocida* son más sensibles a la clortetraciclina que a la tetraciclina o a la oxitetraciclina (Wu y Wolff, 2000). Estas diferencias se explicarían en parte porque la clortetraciclina, al ser más lipofílica que la oxitetraciclina, atravesaría con mayor facilidad la membrana exterior de las bacterias gram-negativas (Wolff, 2003).

Tabla 7: Susceptibilidad de diferentes patógenos porcinos a las tetraciclinas (del Castillo, 2013)

Susceptibilidad buena o moderada (MIC ≤ 4 µg/mL)	Susceptibilidad variable	Resistente (MIC ≥ 16 µg/mL)
Aerobios Gram-positivos		
<i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i> <sup>S</sup>	<i>Staphylococcus spp.</i>	<i>Streptococcus suis</i> <sup>S</sup>
Aerobios Gram-negativos		
<i>Lawsonia intracellularis</i> <sup>E</sup> <i>Haemophilus parasuis</i> <sup>S</sup> <i>Bordetella bronchiseptica</i> <sup>E</sup> <i>Yersinia spp.</i> <sup>E</sup> <i>Leptospira spp.</i>	<i>Salmonella enterica spp.</i> <sup>E</sup> <i>Escherichia coli</i> <sup>E</sup>	<i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i> <sup>S</sup>
Anaerobios		
		<i>Clostridium perfringens</i> <sup>E</sup> <i>Brachyspira hyodysenteriae</i> <sup>E</sup> (Prášek et al. 2013) <i>Brachyspira pilosicoli</i> <sup>E</sup>
Mycoplasmas		
<i>Mycoplasma hyopneumoniae</i> <sup>R</sup>		<i>Mycoplasma hyosinoviae</i> <sup>S</sup>

E: responsable de procesos entéricos; R: responsable de procesos respiratorios; S: responsable de procesos septicémicos

#### 1.5.4 Resistencia bacteriana

Sólo un año después del descubrimiento de la clortetraciclina aparecieron las primeras evidencias de resistencia a este grupo de antimicrobianos (Nelson y Levy, 2011). En la actualidad, la resistencia a tetraciclinas es muy común en patógenos porcinos, principalmente en bacterias entéricas, debido a que su uso está muy extendido en cerdos. De hecho, la aparición de resistencias está correlacionada con el patrón de uso de los antimicrobianos (Jensen et al., 2009), y surgen cuando las bacterias adquieren genes *tet* (tetraciclina) y/o *otr* (oxitetraciclina) a través de elementos genéticos extracromosómicos y móviles como los plásmidos (Chopra y Roberts, 2001).

Estos genes codifican proteínas que proporcionan a la célula bacteriana diferentes mecanismos de resistencia.

Las primeras en descubrirse fueron las proteínas de eflujo asociadas a la membrana celular, las cuales exportan activamente las moléculas de tetraciclina fuera de la célula y en consecuencia disminuyen su concentración intracelular (Nelson y Levy, 2011). En segundo lugar, las proteínas de protección ribosomal son unas proteínas citoplasmáticas que desplazan a las tetraciclinas de su sitio de unión (A) en el ribosoma (del Castillo, 2013), permitiendo por tanto la síntesis proteica bacteriana. Estos dos mecanismos son los más comunes, aunque se han descrito otros como la inactivación enzimática o las mutaciones del ARN ribosomal.

Dado que los genes de resistencia se localizan en elementos genéticos móviles como los plásmidos, estos pueden transferirse entre bacterias patógenas o entre comensales y patógenas y además, que esta transferencia se produzca entre animales y humanos (Boerlin y White, 2013).

#### 1.5.5 Características farmacocinéticas

En los sistemas de producción porcina, la forma más ampliamente utilizada para la administración de tetraciclinas es la vía oral (European Medicines Agency, 2015), tanto en forma de polvo soluble o en forma de premezcla medicamentosa que se adicionan al agua o al pienso y normalmente se ofrecen a los animales *ad libitum*.

Tras su ingestión y posterior disociación en los jugos gástricos, las tetraciclinas orales se absorben rápidamente en el duodeno, aunque la biodisponibilidad es diferente para cada molécula. Así, la clortetraciclina es 3 veces más biodisponible que la oxitetraciclina (del Castillo, 2000).

Por otro lado, los procesos de disociación y absorción de las tetraciclinas pueden variar en función de las interacciones con otros componentes de la propia premezcla medicamentosa o del pienso, el contenido de éste en humedad, la interacción con cationes divalente, la presencia de leche o productos lácteos en el estómago (USP, 2003) o la utilización de acidificantes. En consecuencia, la biodisponibilidad de la clortetraciclina en cerdos varía de un 6 a un 27% (del Castillo y Wolff, 2006). Como ejemplo de lo anteriormente expuesto, (Wanner et al., 1991) demostraron que la inclusión de calcio en el pienso de lechones disminuía su biodisponibilidad y por tanto sus concentraciones plasmáticas mientras que la adición de ácido cítrico las aumentaba.

La presencia de enfermedad también afectaría a la biodisponibilidad, como en el caso de animales con fiebre, en los que se produciría una ralentización del vaciado del estómago y un aumento del pH del jugo gástrico por el que las tetraciclinas precipitarían y por tanto se absorberían menos (Pijpers et al., 1991).

Al ser una molécula liposoluble, la clortetraciclina se distribuye con facilidad por la mayoría de tejidos del cerdo, pero se concentra especialmente en el hígado y los riñones. En el pulmón, sin embargo, se concentra en menor medida pero más que en plasma (del Castillo, 2000). La oxitetraciclina por el contrario, al ser menos liposoluble se distribuye menos (su volumen de distribución es 24% menor) lo que resulta en concentraciones en pulmón y plasma entre 7 y 20 veces menores que la clortetraciclina (Wolff, 2003). En consecuencia, la eficacia clínica de la clortetraciclina en procesos respiratorios es mayor que en el caso de la oxitetraciclina.

Por otra parte, tanto la clortetraciclina como la oxitetraciclina se unen moderadamente a proteínas, alrededor del 50% (USP, 2003) por lo que la fracción libre sería suficiente para que su eficacia clínica no se viera afectada en ninguno de los dos casos. A efectos prácticos

se considera que la unión a proteínas afectaría a la eficacia cuando es mayor de un 80% (Toutain et al., 2002).

Cuando se administra en pienso a cerdos, las concentraciones plasmáticas de clortetraciclina alcanzan el estado estacionario a las 24h del inicio de la administración (Kilroy et al., 1990) y éstas están además correlacionadas con la dosis. Sin embargo, dada su moderada biodisponibilidad oral, puede que la administración en pienso no permita conseguir concentraciones eficaces, es decir por encima de la concentración mínima inhibitoria (MIC, en sus siglas en inglés) de algunos patógenos sensibles (del Castillo, 2013).

Las tetraciclinas se eliminan principalmente por vía urinaria sin ser metabolizadas previamente (USP, 2003), y en cierta medida, en función de su liposolubilidad, por secreción biliar y a través de las heces. En general, la vida media de eliminación ( $t_{1/2}$ ) de las tetraciclinas correlaciona positivamente con su liposolubilidad y al producirse también reabsorción por recirculación hepática, la eliminación puede darse durante periodos largos (Delsol et al., 2003) que se traducirían en valores de  $t_{1/2}$  de entre 6-10 horas (del Castillo, 2013). La clortetraciclina, no obstante, dada su menor estabilidad en fluidos corporales y a pesar de ser más liposoluble, se elimina más rápidamente que la oxitetraciclina (4 vs 5.3 horas de  $t_{1/2}$ ) cuando se administran en pienso a cerdos (del Castillo, 2000).

### 1.5.6 Características farmacodinámicas

Las tetraciclinas, como otros antimicrobianos que actúan a nivel ribosomal, son consideradas como *potencialmente bacteriostáticos* porque inhiben el crecimiento bacteriano de manera reversible y porque la relación entre la concentración mínima bactericida (MBC) y la concentración mínima inhibitoria (MIC) es mayor de 10 (del Castillo, 2000). Es decir, necesitarían una concentración mucho mayor para eliminar al patógeno (Boothe, 2004). Sin embargo, esta clasificación no es estática y algunos antimicrobianos, dependiendo del patógeno pueden convertirse en bactericidas a concentraciones elevadas, de al menos 2 veces la MIC. Esto explicaría, por ejemplo, por qué la clortetraciclina es tan efectiva cuando se utiliza en pienso de manera profiláctica, evitando el desarrollo de lesiones pulmonares en casos de neumonía enzoótica (causada por *Mycoplasma hyopneumoniae*) en cerdos, pero en cambio lo es menos cuando se utiliza

como curativa (95% y 36% de efectividad, respectivamente). En este último caso actuaría como bactericida lo cual sólo se consigue aumentando la dosificación en pienso (Burch, 2004).

Para conseguir ser eficaces, la concentración de un antimicrobiano bacteriostático en el lugar de infección debe mantenerse por encima de la MIC durante la mayor parte del intervalo de dosificación, por lo que se consideran siempre fármacos tiempo-dependiente (Papich, 2001; Maddison, 2003). Además, su efecto persiste una vez finalizada la exposición al fármaco, es decir, durante un período concreto (el tiempo necesario para que el patógeno se recupere del daño subletal sufrido), el crecimiento bacteriano sigue inhibido (Athamna et al., 2004). Este fenómeno se conoce como efecto postantibiótico (PAE, en sus siglas en inglés) y en el caso de las tetraciclinas se considera que tiene una duración prolongada (Craig, 2003). Aunque se ha estudiado en enterobacterias de humanos, otras bacterias gram-negativo, como los principales patógenos respiratorios porcinos, podría tener un efecto postantibiótico de más 3 horas tras una exposición de 1 hora a concentraciones por encima de la MIC. No obstante, la duración del PAE puede aumentar en función del tiempo en que la bacteria está en contacto con concentraciones supra-MIC (Errecalde, 2004). Este podría ser el caso de las medicaciones en pienso de clortetraciclina y oxitetraciclina mediante las cuales se conseguirían concentraciones supra-MIC de estos fármacos por un tiempo mayor (del Castillo, 2000), aunque no está claro que el comportamiento *in vivo* del PAE sea similar al obtenido *in vitro* (Lees et al., 2009).

La MIC (obtenida *in vitro* y expresada en mg/mL o µg/mL) es el índice farmacodinámico más utilizado para medir la potencia y la eficacia de un antimicrobiano. Desde el punto de vista del veterinario clínico ayuda a predecir su éxito o su fracaso en presencia de enfermedad y permite clasificar a los microorganismos como susceptible, intermedio o resistente en función de las probabilidades de curación clínica o de eficacia terapéutica del antimicrobiano, basados en un MIC breakpoint determinado (Kahlmeter et al., 2003). Si la MIC es menor o igual que este punto de corte, el microorganismo es susceptible. Si, por el contrario, la MIC está por encima de este punto, se considerará intermedia o resistente.

Sin embargo, aunque esta clasificación permite al veterinario decidir, cualitativamente, qué antimicrobiano usar, depender exclusivamente de ella puede resultar en fallos terapéuticos



porque si un antimicrobiano está cerca del *breakpoint* y la dosis no es adecuada (situación frecuente en medicaciones en pienso), se corre el riesgo de que el tratamiento no resulte efectivo y de que se creen resistencias. Además, la mayoría de *breakpoints* utilizados en veterinaria se basan en ensayos clínicos humanos (Bywater et al, 2006), por ejemplo, no hay *breakpoints* validados para ningún patógeno causante de enfermedades entéricas en animales (Rubin, 2013). Por ello, pueden resultar inapropiados para otras especies porque las características farmacocinéticas, la unión a proteínas o la susceptibilidad de los aislados bacterianos pueden ser diferentes (Maaland et al., 2013).

Debido a estas limitaciones, y a que la adquisición de resistencias puede provocar un aumento de la MIC que no siempre va acompañado de un aumento en el nivel de resistencia clínica, se considera más apropiado en la práctica usar los valores de MIC (Boerlin y White, 2013) para valorar la eficacia de un antimicrobiano.

Cuando se dispone de muchos aislados de una determinada especie microbiana, los valores de MIC se suelen reportar como MIC<sub>50</sub> y MIC<sub>90</sub> (valor de MIC que inhibe el crecimiento del 50% o del 90%, respectivamente, de los aislados evaluados). La MIC<sub>90</sub> es considerada como el mejor indicador farmacodinámico para, junto con datos farmacocinéticos, estimar la dosis efectiva, y es la de elección en ensayos clínicos durante el proceso de registro de un antimicrobiano (Lees et al., 2004).

En la Tabla 8 se reportan valores de MIC<sub>50</sub> y MIC<sub>90</sub> para clortetraciclina y oxitetraciclina encontrados en la literatura.

Tabla 8: Valores de MIC para clortetraciclina y oxitetraciclina

Antimicrobiano	Patógeno	MIC <sub>50</sub> (µg/mL)	MIC <sub>90</sub> (µg/mL)	Rango (µg/mL)	País	Fuente
Clortetraciclina	<i>L. intracellularis</i> (iMIC)	8	64	0.25-64	Europa/EEUU	Wattanaphansak et al., 2009)
	<i>M. hyopneumoniae</i>	-	3.83	1.03-8.21	EEUU	Williams, 1978
		3.1	≥100	0.2-≥100	Japón	Inamoto et al, 1994 (en Burch, 2010)
		3.12	6.25	0.2-12.5	Tailandia	Narongsak and Thongkamkoon, 2002 (1997-1998) (en Thongkamkoon et al., 2013)
		25	50	3.12-100	Tailandia	Thongkamkoon et al, 2013 (2006-2011)
		-	8	0.015-16	Bélgica	Del Pozo Sacristán et al., 2012
	<i>H. parasuis</i>	≤0.5	4	≤0.5-8	EEUU	Mills et al, 2008 (2003-2007)
	<i>P. multocida</i>	≤0.5	1	0.5-8	España	Vera Lizarazo et al., 2006) (1987-1988)
		2	8	0.5-8	España	Vera Lizarazo et al, 2006 (2003-2004)
		2	4	1-4	EEUU	Mills et al, 2008 (2003-2007)
	<i>B. bronchiseptica</i>	≤0.5	≤0.5	≤0.5-1	EEUU	Mills et al, 2008 (2003-2007)
	<i>E.coli</i>	>32	>32	32->32	EEUU	Mills et al, 2008 (2003-2007)
	<i>A. pleuropneumoniae</i>	8	16	1-32	EEUU	Mills et al, 2008 (2003-2007)
<i>S. suis</i>	32	>32	32->32	EEUU	Mills et al, 2008 (2003-2007)	
Oxitetraciclina	<i>M. hyopneumoniae</i>	0.2	3.13	0.025-12.5	Japón	Inamoto et al, 1994 (en Burch, 2010)
		0.13	2	0.016-4	Reino Unido	Bousquet et al.1997 (1989-1993)
		0.25	1	0.025-1	Reino Unido/Francia/ Dinamarca/EEUU/Japón	Hannan et al, 1997
		0.12	1	0.03-2	Bélgica	Vicca et al, 2004 (2000-2002)
		0.39	0.78	0.1-1.56	Tailandia	Narongsak and Thongkamkoon, 2002 (1997-1998) (en Thongkamkoon et al., 2013)
		6.25	6.25	0.78-12.5	Tailandia	Thongkamkoon et al, 2013 (2006-2011)
		-	0.4	-	España	RCP Apsamix Oxitetraciclina 20% (2009)
	<i>H. parasuis</i>	0.5	4	0.25-8	Reino Unido	Martín de la Fuente et al., 2007
		4	>8	0.25-8	España	Martín de la Fuente et al. 2007
		-	1	-	España	RCP Apsamix Oxitetraciclina 20% (2009)
	<i>P. multocida</i>	0.5	16	0.5-64	Francia	Bousquet et al, 1997 (1990-1991)
		1	1	0.25-8	España	Vera Lizarazo et al, 2006 (1987-1988)
		2	>8	0.5-16	España	Vera Lizarazo et al, 2006 (2003-2004)
	<i>B. bronchiseptica</i>	-	0.6	-	España	RCP Apsamix Oxitetraciclina 20% (2009)
	<i>A. pleuropneumoniae</i>	0.5	32	0.5-32	Francia	Bousquet et al, 1997 (1990-1991)
		0.78	25	0.2-50	Japón	Yoshimura et al, 2002 (1995-1997)

Los valores sombreados fueron los utilizados para los cálculos PK/PD.

## 1.6 Tilosina

La tilosina es un antibiótico macrólido producido mediante fermentación por *Streptomyces fradiae*, una bacteria gram-positiva aislada por primera vez de una muestra de tierra de Tailandia, que produce otros antimicrobianos como la neomicina (aminoglicósido) y la fosfomicina (McGuire et al., 1961).

Su uso es exclusivamente veterinario siendo introducida a principios de los años 70 como promotor de crecimiento (es decir, administrado a dosis subterapéuticas en el pienso) hasta 1999, cuando se prohíbe este uso en toda la Unión Europea (Casewell et al., 2003).

### 1.6.1 Características fisicoquímicas

La estructura química de la tilosina, cuya fórmula molecular es  $C_{46}H_{77}NO_{17}$ , se presenta en la figura 5. Los macrólidos se clasifican químicamente como lactonas macrocíclicas, y se diferencian por el número de átomos de carbono (entre 12 y 16) comprendidos en el anillo de lactona al que se le unen también varias combinaciones de desoxiazúcar mediante enlaces glucosídicos. La tilosina tiene 16 átomos de carbono en su anillo central de lactona que está unido a tres azúcares, dos en la posición 5 del anillo (micaminosa, micarosa) y otro en la posición 14 (micinosa).

La tilosina es en realidad la suma de diferentes moléculas producidas durante el proceso de fermentación y cuyas proporciones pueden variar dependiendo de cómo se ha controlado este proceso. Todas ellas contribuyen a la potencia antimicrobiana de la tilosina, aunque la mayor parte de esta actividad es debida a la tilosina A, mientras que la B (desmicosina), la C (macrocina) y la D (relomicina) tienen un 83%, 75% y 35% de la actividad de la tilosina A, respectivamente (FAO/WHO, 2009).

En estado seco se cristaliza en pequeñas láminas blanco-amarillentas. Es poco soluble en agua pero soluble en metanol, alcohol, y cloroformo y es insoluble en hidrocarburos (USP, 2003). Se presenta normalmente en forma de sales como fosfatos y tartratos para mejorar su solubilidad.

### 1.6.2 Mecanismo de acción

El efecto bacteriostático de la tilosina y otros macrólidos se debe a que detiene la síntesis proteica al unirse de forma reversible al ARN ribosomal 23S (un componente de la subunidad 50 del ribosoma bacteriano), lo que inhibe los procesos de transpeptidación y translocación impidiendo la progresión de las cadenas polipeptídicas en formación (Mankin, 2008) y por tanto deteniendo la reproducción celular.

Otros antimicrobianos como las lincosamidas y estreptograminas tienen un mecanismo de acción similar y compiten por el mismo sitio de unión en la subunidad 50, por lo que los mecanismos de resistencia son también similares (Pyörälä et al., 2014).

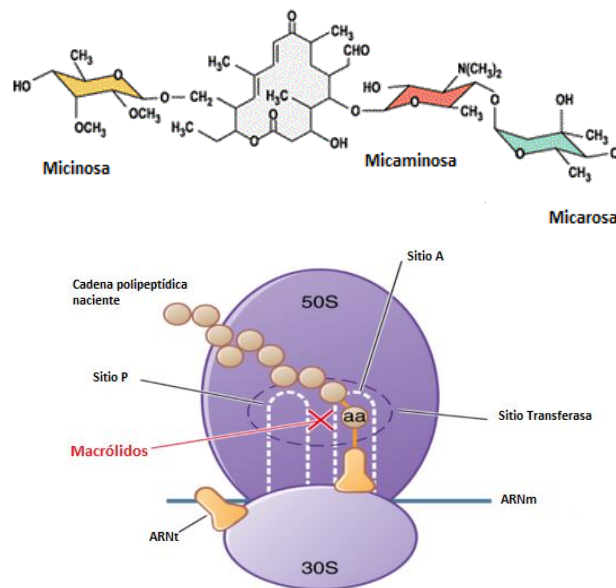


Figura 5: Estructura química de la tilosina y mecanismo de acción<sup>h</sup>

Los macrólidos en general pueden atravesar la membrana de las células eucariotas (especialmente células de la serie blanca incluidos macrófagos), lo que les hace efectivos contra patógenos intracelulares a la vez que tiene efectos beneficiosos para las defensas del animal. Stuart et al. (2007), sin embargo, demostraron que la tilosina, aun teniendo una estructura similar, penetra en menor medida en células epiteliales porcinas que la tilmicosina, entre otros, lo cual influye en su eficacia al tratar enfermedades producidas por

<sup>h</sup> Adaptado de Mankin (2008) y <http://www.antibiotics-info.org/>

este tipo de patógenos. Este es el caso, por ejemplo, de la enteropatía proliferativa causada por *Lawsonia intracellularis* un patógeno intracelular obligado, y frente al que la tilosina tendría una susceptibilidad moderada (Wattanaphansak, 2009).

### 1.6.3 Actividad antibacteriana

La tilosina es activa frente a bacterias gram-positivo, micoplasmas y, aunque es efectiva frente a algunas bacterias gram-negativo (Tabla 9), en general no es eficaz frente enterobacterias porque su molécula es demasiado grande para atravesar sus membranas celulares (Burch, 2012; Boerlin and White, 2013).

**Tabla 9:** Susceptibilidad de diferentes patógenos porcinos a la tilosina<sup>i</sup>

Susceptibilidad buena (MIC ≤ 0.5 µg/mL)	Susceptibilidad moderada (MIC 1-4 µg/mL)	Resistente (MIC ≥ 8 µg/mL)
Aerobios Gram-positivos		
<i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i> <sup>S</sup>	<i>Bordetella bronchiseptica</i> . <sup>R</sup>	<i>Streptococcus Suis</i> <sup>S</sup>
Aerobios Gram-negativos		
	<i>Lawsonia intracellularis</i> <sup>E</sup>	<i>Pasteurella multocida</i> <sup>R</sup> <i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i> <sup>R</sup> <i>Enterobacteriaceae (E.coli)</i> <sup>E</sup>
Anaerobios		
<i>Clostridium perfringens</i> <sup>E</sup>		<i>Brachyspira hyodysenteriae</i> <sup>E</sup> <i>Brachyspira pilosicoli</i> <sup>E</sup>
Mycoplasmas		
<i>Mycoplasma hyopneumoniae</i> <sup>R</sup>		<i>Mycoplasma hyosynoviae</i> <sup>S</sup>

E: responsable de procesos entéricos; R: responsable de procesos respiratorios; S: responsable de procesos septicémicos

### 1.6.4 Resistencia bacteriana

La resistencia a macrólidos es bastante frecuente en cerdos y muy probablemente sea debida al uso tan extendido de la tilosina como promotor de crecimiento durante muchos años. Se produce principalmente por tres mecanismos y es transmitida por genes asociados también a elementos móviles que permiten su propagación entre diferentes cepas y especies de microorganismos.

Adaptado de Burch (2012) y Giguère (2013)

El primero, las proteínas de eflujo, como en el caso de las tetraciclinas, bombean las moléculas de antimicrobiano fuera de la célula permitiendo que los ribosomas bacterianos vuelvan a funcionar. Sin embargo, parece que este mecanismo no interfiere en la susceptibilidad de macrólidos con 16 átomos de carbono como la tilosina (Giguère, 2013).

El segundo, y quizás el más conocido, se produce por la inhibición de la unión al ribosoma. En este mecanismo están implicados varios genes que codifican para metiltransferasas. El gen *ermS* añade un grupo metilo al nucleótido A2058 del ARN ribosomal 23S, lo que proporciona una gran resistencia a lincosamidas pero baja a macrólidos y estreptogramina B. Para conferir resistencia a la tilosina se necesita además otra metilación (gen *tlrB*) al nucleótido G748 del ARN ribosomal. Este mecanismo sinérgico sólo se da para la tilosina y la micinamicina, debido a la posición de los azúcares en estas moléculas (5 y 14, diferente del resto) (Liu y Douthwaite, 2002). Por otro lado, el gen *ermN* provoca una dimetilación en el nucleótido A2058 que es la responsable de la elevada resistencia cruzada entre el grupo de antimicrobianos denominados en conjunto MLS<sub>B</sub> (macrólidos, lincosamidas y estreptogramina B) y que tiene una gran prevalencia en bacterias patógenas (Aarestrup y Friis, 1998).

Por último, existe un tercer mecanismo de inactivación de algunas enzimas bacterianas pero por el momento se desconoce su importancia clínica.

### 1.6.5 Características farmacocinéticas

En el cerdo, la tilosina puede utilizarse por vía intramuscular como inyectable o por vía oral, en agua de bebida o en forma de premezcla medicamentosa (en España todas las autorizadas son en forma de sal de fosfato).

Tras la administración oral, la tilosina se absorbe rápidamente, aunque su biodisponibilidad por esta vía es moderada (22.5%), alcanzando una concentración máxima aproximadamente 1-1.5 h después de su administración. Dada su moderada unión a proteínas (30-47%) y su alto grado de liposolubilidad, se distribuye con facilidad por los tejidos y fluidos corporales (Prats et al., 2002), encontrándose concentraciones mayores en tejidos que en el plasma, como el pulmón donde, tras su administración en pienso, Vicca et al. (2005), detectaron mediante inmunotinción, que la tilosina se acumulaba en los

macrófagos alveolares. Esta concentración pulmonar, además, se mantiene de 2 a 26 horas por encima de la concentración plasmática tras una administración intramuscular (USP, 2003). Además, 24h post-administración la tilosina ya no es detectable después de su administración oral a dosis única de 110 mg/kg de peso (Lewicki, 2006), metabolizándose principalmente en el hígado dando lugar a unos metabolitos excretados mayoritariamente en heces.

### **1.6.6 Características farmacodinámicas**

Los macrólidos, de la misma manera que las tetraciclinas, se consideran bacteriostáticos, aunque pueden actuar como bactericidas a concentraciones plasmáticas elevadas o frente a bacterias altamente susceptibles (USP, 2003).

Por regla general, las concentraciones plasmáticas suelen ser el mejor vaticinador del éxito terapéutico de un antimicrobiano frente a una infección (Toutain et al., 2002), aunque para algunos macrólidos como la tilmicosina que se acumulan en el pulmón, su concentración pulmonar explicaría mejor su eficacia. En el caso de la tilosina, las concentraciones plasmáticas son similares a las observadas en pulmón, pero en cambio se acumula en el citoplasma de algunas células como los macrófagos alveolares, por lo que las concentraciones plasmáticas estarían también subestimando su eficacia (McKellar et al., 2004) ya que, a concentraciones sub-MIC siguen teniendo efecto antimicrobiano. La acumulación en macrófagos alveolares y neutrófilos también se ha observado en la tilmicosina y parece que estas células ayudarían a eliminar a las bacterias patógenas gracias su gran movilidad por el espacio pulmonar (Burch, 2012).

Como antimicrobianos bacteriostáticos también se consideran tiempo-dependiente, es decir, para resultar eficaces, sus concentraciones deben mantenerse por encima de la MIC el mayor tiempo posible (McKellar et al, 2004). Además, presentan un PAE prolongado cuya duración aumenta con la concentración del fármaco, lo que contribuiría a mejorar su eficacia *in vivo* (Craig, 1998).

## 1.7 Colistina

La colistina o polimixina E es un antibiótico polipéptídico, aislado por primera vez en 1949 y muy efectivo contra bacterias gram-negativas como *E. coli*, *P. aeruginosa*, y *Salmonella spp.* (He et al., 2010), al unirse a componentes lipopolisacáridos de su membrana externa. Esta unión causa una disrupción en la membrana que aumenta su permeabilidad permitiendo la salida de componentes celulares lo que probablemente causaría la muerte bacteria, aunque no está claro que sea el único mecanismo de acción (Yahav et al., 2012).

Una de sus principales características es que, al ser moléculas relativamente grandes, prácticamente no se absorben por vía oral (Nation et al., 2015). Esto, unido a la susceptibilidad a la colistina de la mayoría de bacterias enteropatógenicas, la convierten en el antimicrobiano de elección en casos de infecciones gastrointestinales (Guyonnet et al., 2010).

En producción porcina, la colistina se ha utilizado durante décadas por esta vía para prevenir diarreas neonatales y post-destete producidas principalmente por *E. coli* (Timmerman et al., 2006). Mayoritariamente, un 75% del total de ventas en España, es en forma de premezcla medicamentosa administrada en pienso, y en la Unión Europea, España e Italia son los países que más la utilizaban en animales de producción (European Medicines Agency, 2015).

En medicina humana, sin embargo, desde su aparición, el uso tanto de colistina como polimixina B (muy similares en estructura y mecanismo de acción) se restringió a oftalmología y dermatología debido a su elevada neuro y nefrotoxicidad (Conole y Keating, 2014; Nation et al., 2015). Únicamente se administra por vía sistémica o por inhalación (en forma de prodroga) en casos de pacientes con fibrosis quística para el control de infecciones respiratorias provocadas por *P. aeruginosa* (Conole and Keating, 2014).

A pesar de su posible toxicidad y debido a que muchos patógenos implicados en infecciones nosocomiales son actualmente multiresistentes (p.ej. *P. aeruginosa* o



*Acinetobacter spp.*), el uso de colistina en medicina humana ha aumentado como alternativa ante la falta de efectividad de otros antimicrobianos (Boucher et al., 2009).

Aunque la tasa de resistencias a las polimixinas es relativamente baja, existe la preocupación de que esta situación esté cambiando ya que, por ejemplo, en pacientes con tratamientos inhalatorios prolongados está aumentando su aparición en aislados de *P. aeruginosa* (Conole and Keating, 2014). Además, en pacientes de cuidados intensivos se han reportado casos de resistencia a colistina en enterobacterias después de su administración por vía oral (Catry et al., 2015).

En cerdos, Jurado Rabadán (2013) no observó un aumento del nivel de resistencia de *E.coli* a este antimicrobiano tras su administración en agua de bebida a tres dosis diferentes (sub-terapéutica, terapéutica y sobre-terapéutica). De hecho, a pesar del extenso uso preventivo de colistina en cerdos, en la mayoría de países europeos la tasa de resistencia de cepas de *E.coli* aisladas del tracto digestivo de animales sanos sigue siendo muy baja (menos del 1%) (Kempf et al., 2013).

Por otro lado, hasta la fecha no existen evidencias de que el uso de colistina en especies de producción como el cerdo haya provocado la transmisión de resistencias a humanos, sino que es este aumento del uso en humanos lo ha provocado el incremento en la aparición de resistencias. Por ejemplo, Callens et al. (2012) reportaron un aumento de más del doble en el uso de colistina en hospitales belgas entre 2008 y 2011. No obstante, muy recientemente (Liu et al., 2016) observaron por primera vez un caso de resistencia mediada por plásmidos en aislados de *E.coli* en cerdos en China, cuando hasta la fecha se creía que la transferencia de resistencia se debía únicamente a mutaciones de diferentes genes involucrados en la síntesis de lipopolisacáridos (Prim et al., 2016). Este hallazgo confirma que la transferencia de resistencia a colistina entre animales y humanos no es en absoluto descartable.

La Comisión Europea, adelantándose a este hallazgo, aplicando el principio de precaución, y después de la evaluación científica pertinente (European Medicines Agency, 2013a), adoptó la decisión de restringir el uso de colistina en medicina veterinaria excluyendo de los RCP de los productos de administración por vía oral las indicaciones de uso profiláctico o mejora de la producción, permitir únicamente un

uso terapéutico y metafiláctico (previa confirmación de la enfermedad) y sólo para el tratamiento de infecciones entéricas causadas por *E.coli* no invasiva sensible a este antimicrobiano, limitando su duración a 7 días. En España, la AEMPS hizo vigente estas restricciones a partir de marzo de 2015, por lo que a fecha de finalización del presente informe de tesis, la colistina debería haber sido eliminada como tratamiento profiláctico en cerdos.

## 2 HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

Las principales hipótesis que se han pretendido evaluar en el presente trabajo de tesis fueron:

- Existe un uso generalizado y combinado de antimicrobianos durante las primeras etapas del engorde en cerdos administrados en pienso.
- Existe un uso diferente al recomendado según la legislación y el registro de fármacos veterinarios.
- La coadministración de varios antimicrobianos en el pienso en cerdos presenta riesgos de interacciones farmacocinéticas.
- La presencia de enfermedad afecta a la disposición de los antimicrobianos administrados de manera rutinaria en el pienso.
- Existen riesgos de disminución de la eficacia terapéutica, aparición de resistencias microbianas, derivado del uso de los antimicrobianos en el pienso en el sector porcino.

Para comprobar estas hipótesis, el objetivo principal del presente trabajo de tesis fue evaluar el comportamiento farmacocinético de antimicrobianos administrados en el pienso a cerdos en condiciones de uso reales, con el fin de determinar las implicaciones terapéuticas y de fomento de las resistencias bacterianas que implican estas condiciones de uso.

Para alcanzar el objetivo principal se establecieron los siguientes objetivos secundarios:

1. Evaluación de los patrones de uso profiláctico de antimicrobiano en piensos en el contexto de Catalunya.
2. Evaluación de los parámetros farmacocinéticos y la posible interacción de antimicrobianos coadministrados en piensos medicamentosos a cerdos sanos en condiciones de uso real.
3. Evaluación del efecto de la enfermedad sobre el comportamiento farmacocinético de los antimicrobianos coadministrados en piensos medicamentosos a cerdos enfermos en condiciones de campo.
4. Evaluación de los riesgos terapéuticos del uso de piensos medicamentosos durante las fases productivas del cerdo aplicando las relaciones PK/PD.

## **3 MATERIALES Y MÉTODOS**

### **3.1 Encuesta sobre uso de antibacterianos en producción porcina**

#### **3.1.1 Formulario**

Durante el año 2012 se contactó con empresas integradoras y cooperativas del sector porcino en Catalunya para conocer el uso real de antimicrobianos como premezclas medicamentosas en las diferentes fases productivas del cerdo. Se les proporcionó un formulario donde se les requería la siguiente información:

- Descripción del pienso (lactoiniciador, prestarter, starter, precebo, cerdas gestantes)
- Cantidad anual fabricada por tipo de pienso
- Número de granjas a las que va destinado por tipo de pienso
- Consumo de pienso estimado (kg) por animal y por tipo de pienso
- Principio activo de las premezclas medicamentosas por tipo de pienso
- Dosificación en ppm del principio activo
- Duración de los tratamientos

Los formularios completados se recibieron por correo electrónico. En caso de duda se contactó por teléfono o por correo electrónico con los responsables de dichas respuestas.

Los datos obtenidos en cuanto a la duración de los tratamientos, las dosis utilizadas, y las posibles interacciones se compararon con las fichas técnicas de los productos registrados en España para cada principio activo.

#### **3.1.2 Selección de los tratamientos a aplicar**

A partir de los resultados de las encuestas, se seleccionaron las combinaciones de antimicrobianos que se utilizarían en los estudios de campo realizados con animales sanos y enfermos. Para esta selección se tuvieron en cuenta varios criterios:

- Las combinaciones utilizadas debían ser representativas del uso real en las explotaciones catalanas
- Todos los animales debían estar en la misma fase productiva (precebo)

- Al menos uno de los antimicrobianos debía ser de los más utilizados (ej. tetraciclinas y colistina)
- Disponer de método analítico validado en el laboratorio para el análisis de las concentraciones plasmáticas de los fármacos.

## **3.2 Análisis de las muestras**

### **3.2.1 Análisis cromatográfico**

Los métodos analíticos para la cuantificación de clortetraciclina, oxitetraciclina y tilosina en plasma de cerdo fueron investigados, puestos a punto y validados en el Servei d'Anàlisi de Fàrmacs de la UAB. Los métodos se basaron en una extracción líquido-líquido seguida de una separación cromatográfica por HPLC con detección ultravioleta.

### **3.2.2 Análisis serológico**

En la granja de Artesa de Lleida y a criterio de la veterinaria de la explotación se remitieron muestras de sangre a Laboratorios Hipra S.A. para la determinación de anticuerpos contra el virus de PRRS mediante ELISA (CIVTEST SUIS PRRS).

## **3.3 Animales sanos**

### **3.3.1 Productos de ensayo**

Para el tratamiento de los animales se utilizaron cuatro premezclas medicamentosas a base de óxido de zinc (Apsamix zinc 100 mg/g; Andrés Pintaluba, S.A.), colistina (colistina sulfato; Colimix 100 mg/g; Andrés Pintaluba, S.A.), tilosina (Tilosina fosfato, Trelacon G 250 premezcla; Elanco Valquímica S.A.) y clortetraciclina (Clortetraciclina clorhidrato; CLORTETRACICLINA LSP 10% premezcla; Laboratorios Serra Pàmies S.A.).

### **3.3.2 Materiales**

Los principales materiales utilizados durante la fase experimental con animales fueron los descritos a continuación:

- Aguja estéril 20G Terumo
- Báscula electrónica (Soehnle 7743)
- Centrífuga (Hettich Rotina 35R)

- Congelador de -20 °C (Eurocold HF-G1)
- Jeringas estériles de 5 mL (B. Braun)
- Nieve carbónica
- Termómetro medidor de temperatura rectal (Hartmann Thermoval Rapid Flex)
- Tubos Eppendorf de 3 mL
- Tubos heparinizados con Heparina de Sodio Vacuette 6 mL
- Tubos Vacutainer® no heparinizados 5 mL

### 3.3.3 Animales

Se utilizaron 40 animales, hembras, raza DanBred, entre 7 y 9 semanas de edad y con un peso al inicio de la fase experimental entre 12.2 y 21.4 kg. Como identificación se utilizó el número individual del crotal, de uso habitual en la granja. Los animales fueron estabulados en corrales por grupo con lecho seco y recibieron, ad libitum, agua y un pienso libre de antimicrobianos (pero que incluía óxido de zinc) durante 7 días previo al tratamiento para garantizar una correcta adaptación y un blanqueo óptimo de los animales. La temperatura ambiental fue registrada diariamente durante toda la fase experimental.

### 3.3.4 Tratamientos

Los piensos medicamentosos fueron preparados en la fábrica de PH Ibérica (Barberà del Vallès, Barcelona) mediante una mezcladora industrial. Se utilizaron 700 kg de pienso no medicado fabricado por Nutrex Pinosos (Banyoles, Girona). De éstos, 300 kg se utilizaron como pienso pre-tratamiento después de mezclarlo con 1500 ppm de óxido de zinc. A continuación se prepararon 100 kg de cada pienso medicamentoso para cada grupo de tratamiento según se detalla en la tabla 10:

**Tabla 10:** Tratamientos en pienso utilizados en animales sanos

Principio Activo (ppm)	Grupo A (TLS)	Grupo B (CTC)	Grupo C (TLS + CTC)	Grupo D (TLS + CTC + CLS)
Tilosina	100		100	100
Clortetraciclina		266	266	266
Colistina				120
Óxido de Zinc	1500	1500	1500	1500

### **3.3.5 Diseño experimental**

El estudio se realizó en una granja de ciclo cerrado situada en Castellterçol (Barcelona). Los 40 animales seleccionados se dividieron de manera aleatoria en cuatro corrales (uno por cada grupo de tratamiento). Tras la evaluación clínica previa al inicio del estudio, se les ofreció el pienso pre-tratamiento *ad libitum* durante una semana. El primer día de tratamiento se retiró el pienso pre-tratamiento remanente y se ofreció *ad libitum* una cantidad pesada de pienso por corral y grupo. Además, se pesaron los animales y se realizó de nuevo una evaluación clínica.

Los animales fueron tratados durante 8 días. Cada día se pesó el remanente de pienso del día anterior y se volvió a ofrecer una cantidad pesada, lo cual permitió conocer el consumo de pienso y, por tanto, las dosis de antimicrobianos administrados por corral. Además los animales se pesaron cuatro veces durante el tratamiento (días 1, 4, 7 y 9) para valorar su evolución. Durante las últimas 24 horas de tratamiento se realizaron tres extracciones de sangre a cada animal separadas 12h: 168h, 180h y 192h post inicio del tratamiento.

### **3.3.6 Obtención y conservación de las muestras**

Las muestras de sangre (5 mL) se extrajeron por punción yugular mediante agujas y jeringas estériles. Inmediatamente después de su obtención, la sangre se vertió en tubos heparinizados e identificados con el número del animal. Los tubos se centrifugaron a 3500 rpm durante 10 minutos a 4 °C. El plasma resultante se dividió en dos alícuotas en tubos *Eppendorf* identificados con el número del animal, fecha de extracción y tiempo de muestreo, se congeló y se transportó en nieve carbónica hasta el laboratorio para su posterior almacenamiento a -20 °C hasta el día del análisis.

## **3.4 Animales enfermos**

### **3.4.1 Selección de las granjas**

Se seleccionaron tres granjas (Tabla 11) situadas en la provincia de Lleida que utilizaban piensos medicados con combinaciones de antimicrobianos y donde al menos uno de ellos se utilizara también en la granja con animales sanos de Castellterçol (Barcelona).

**Tabla 11: Combinaciones de antimicrobianos utilizadas en las granjas del estudio**

Ubicación de la granja	Tratamiento
Artesa de Lleida	Clortetraciclina + Tilosina + Colistina + Óxido de Zinc
Belcaire d'Urgell	Clortetraciclina + Lincomicina
Ponts	Oxitetraciclina + Tilosina + Colistina + Óxido de Zinc

Mediante un formulario se recogieron los datos que se consideraron relevantes de cada granja:

- Datos Generales:
  - Localización
  - Tipo de explotación (ciclo cerrado, engorde)
  - Capacidad total de explotación
  - Capacidad de la nave
  - Número de animales por corral
- Animales:
  - Raza
  - Fecha de entrada en la explotación
  - Peso a la entrada
- Pienso:
  - Tipo de pienso (prestarter, starter, precebo, cebo)
  - Harina/granulado
  - Fecha de inicio de consumo del pienso medicamentoso
  - Tratamientos en el pienso (fármaco y dosis)
- Agua:
  - Tipo de abastecimiento
  - Tratamientos (ej. acidificantes)
- Registro de tratamientos adicionales
  - Fármaco, dosis y vía de administración

#### 3.4.1.1 Evaluación de la enfermedad

Para evaluar el estado sanitario, se realizó una inspección veterinaria previa a la selección de los animales por parte del veterinario habitual de la granja. A criterio del mismo, se realizaron pruebas complementarias, como análisis serológicos en la granja de Artesa de



Lleida, para determinar la presencia de enfermedades subclínicas como el Síndrome Respiratorio y Reproductivo Porcino (PRRS).

#### 3.4.1.2 Selección de los animales

Se seleccionaron un total de 69 animales de tres granjas diferentes (Tabla 12) que presentaban sintomatología respiratoria y/o digestiva, palidez generalizada y/o retraso en el crecimiento.

**Tabla 12: Raza y número de animales utilizados por granja**

Granja	Raza	Número de animales
Artesa de Lleida	(Landrace x Large White x Duroc) x Pietrain	45
Belcaire d'Urgell	Pietrain x Duroc	12
Ponts	(Landrace x Large White) x Pietrain	12

La mayoría de los animales seleccionados se encontraban alojados en corrales “enfermería” junto con otros animales enfermos, aunque también se incluyeron en el estudio animales enfermos alojados con animales sanos en la granja de Artesa de Lleida.

Mediante un formulario se recogieron los signos clínicos más relevantes:

- Presencia de tos
- Tipo de respiración (normal, disnea, disnea severa)
- Secreción nasal
- Temperatura rectal
- Grado de actividad (normal, disminuida, postración)
- Heces (normales, blandas, diarrea)
- Retraso en crecimiento

#### 3.4.2 Producto de ensayo

En la tabla 13 se detallan los fármacos utilizados en cada granja y los días de tratamiento previos a la primera extracción de sangre.

**Tabla 13: Antimicrobianos, dosificación en pienso y días en tratamiento de los animales**

Granja	Tratamiento	Inclusión en pienso (ppm)	Días en tratamiento
Artesa de Lleida	Clortetraciclina	400	5, 9
	Tilosina	100	
	Colistina	150	
	Óxido de Zinc	1500	
Bellcaire d'Urgell	Clortetraciclina	600	11
	Lincomicina	110	
Ponts	Oxitetraciclina	400	9
	Tilosina	150	
	Colistina	100	
	Óxido de Zinc	1500	

### 3.4.3 Diseño experimental

Tras la inspección veterinaria previa, se seleccionaron animales con síntomas de enfermedad, se les identificó con crotales con numeración individual y se les tomó la temperatura rectal. A continuación se realizaron tres extracciones de sangre a cada animal separadas 12h.

Dado que en las granjas de Bellcaire d'Urgell y Ponts todos los animales se alojaban en un mismo corral enfermería, fue posible también medir el consumo de pienso y pesar a los animales para conocer la dosis real administrada al grupo.

En la granja de Artesa de Lleida se obtuvieron también muestras de sangre de 22 de los 45 animales seleccionados para posible diagnóstico de PRRS en suero.

### 3.4.4 Obtención y conservación de las muestras

Las muestras de sangre (5 mL) se extrajeron por punción yugular mediante agujas y jeringas estériles. Inmediatamente después de su obtención, la sangre se vertió en tubos heparinizados e identificados con el número del animal. Los tubos se centrifugaron a 3500 rpm durante 10 minutos y a 4 °C. El plasma resultante se dividió en dos alícuotas en tubos *Eppendorf* identificados con el número del animal, fecha de extracción y tiempo de muestreo, se congeló y se transportó en nieve carbónica hasta el laboratorio para su posterior almacenamiento a -20 °C hasta el día del análisis. En la granja de Artesa de Lleida, las muestras de sangre para análisis serológicos realizadas a 22 animales se

vertieron en tubos no heparinizados e identificados con el número del animal. Posteriormente se enviaron refrigeradas al laboratorio para su posterior análisis.

### 3.5 Análisis farmacocinético

Basándonos en las concentraciones plasmáticas de los fármacos de cada animal, se calcularon los siguientes parámetros farmacocinéticos mediante el programa Excel (Microsoft Office, 2007):

- **Área bajo la curva de niveles plasmáticos (AUC):** Parámetro que estima la cantidad de fármaco que tiene acceso al plasma. Se calculó mediante el método trapezoidal utilizando la siguiente fórmula:

$$AUC_{0-t} = \sum_0^t \frac{C_{n-1} + C_n}{2} [t_n - t_{n-1}]$$

Se obtuvieron las AUC para los dos períodos de muestreo durante el tratamiento.

- **$C_{max}$ :** Máxima concentración plasmática observada.
- **$C_{min}$ :** Mínima concentración plasmática observada.
- **Tiempo medio de residencia (MRT):** Promedio de tiempo en que un fármaco permanece en su forma inalterada en el organismo, calculado mediante la fórmula siguiente:

$$MRT = \left[ \frac{AUMC_{0-\infty}}{AUC_{0-\infty}} \right]$$

Donde,

$$AUMC_{0-t} = \sum_0^t \frac{C_{n-1} \times t_{n-1} + C_n \times t_n}{2} [t_n - t_{n-1}]$$

### 3.6 Análisis PK/PD

Se evaluaron los siguientes índices terapéuticos:

- ***AUC/MIC***: Relación entre área bajo la curva concentración-tiempo y la concentración mínima inhibitoria.
- ***C<sub>max</sub>/MIC***: Relación entre la concentración plasmática máxima y la concentración mínima inhibitoria.
- ***T > MIC***: Período de tiempo (24h) durante el cual los niveles plasmáticos están por encima del valor de la MIC del agente patógeno. Se expresa como porcentaje (%) del intervalo de dosificación (24h), una vez alcanzado el estado estacionario. El cálculo se realizó según el procedimiento descrito por Godoy (2007).

Para la determinación de estos índices se consideró el máximo valor de la MIC<sub>90</sub> de diferentes patógenos sensibles a clortetraciclina y oxitetraciclina descritos en las fichas técnicas de las premezclas medicamentosas autorizadas en España y para los cuales se encontraron datos bibliográficos ([apartado 1.5.6](#)). Cuando para un mismo patógeno se encontró más de un valor de MIC en la bibliografía, el índice PK/PD se calculó para el valor más reciente.

### 3.7 Evaluación estadística

Los análisis estadísticos en el presente trabajo de tesis se realizaron mediante el programa estadístico R (versión 3.0.2). Las pruebas estadísticas utilizados dependieron básicamente del tipo de variable estudiada. Como normal general, la selección de la prueba estadística se realizó en función de la existencia de normalidad y homocedasticidad en la distribución de los parámetros en cada grupo.

La normalidad de los resultados fue determinada por obtención de los estadísticos de Shapiro-Wilk. Se estableció también la homocedasticidad de los datos mediante el test de Bartlett para la homogeneidad de varianzas. En ambos casos se asumió un nivel de significación estadística de  $p \leq 0.05$ . Se utilizaron pruebas paramétricas cuando existió normalidad y homocedasticidad de los datos y pruebas no paramétricas cuando estos criterios no se cumplieron.

Antes de la selección de la prueba se tuvo en cuenta si los resultados a evaluar correspondían a datos relacionados o independientes. Las pruebas paramétricas utilizadas fueron ANOVA y ANCOVA de un factor. En los casos en los que el resultado del test ANOVA fue significativo se aplicó el test post-hoc de Tukey para la comparación de pares de grupos. Cuando no se demostró homogeneidad de varianzas se utilizó el test de Kruskal Wallis y análisis de regresión no paramétrica. En todos los casos el nivel de significación estadística fue de  $p \leq 0.05$ .

Para el estudio de la interacción de fármacos en los diferentes grupos de animales sanos se calcularon los intervalos de confianza de Tukey.

## 4 RESULTADOS

### 4.1 Resultados de la encuesta de consumo de piensos

Durante el año 2012 se contactó con ocho empresas catalanas fabricantes de piensos para porcino. Cinco empresas están situadas en la provincia de Lleida y tres en Barcelona. El cuestionario fue contestado por seis de las ocho empresas (cuatro en Lleida y dos en la provincia de Barcelona).

En la tabla 14 se resumen las cantidades anuales de pienso medicamentoso a base de antimicrobianos y/o óxido de zinc producidas por cada empresa en cada fase productiva.

**Tabla 14: Cantidades anuales de pienso medicamentoso producido con antimicrobianos y/o óxido de zinc por empresas fabricantes de pienso en Catalunya**

Empresa	Ubicación	Tm anuales de pienso medicamentoso con antibiótico y/o óxido de zinc				
		Predestete (1-24 días)	Transición (24-70 días)		Entrada a engorde	
		Lactoiniciador	Prestarter	Starter	Precebo	Cerdas gestantes
1	Barcelona	220	1320	5720	8800	600
2	Barcelona	-	1100	1400	2500	475
3	Lleida	260	1350	4250	3500	2000
4	Lleida	-	1642	7823	3984	768
5	Lleida	770	3700	10700	10560	1961
6	Lleida	3780	8500	29750	24600	0
	<b>Total</b>	<b>5030</b>	<b>17612</b>	<b>59643</b>	<b>53944</b>	<b>5804</b>

En total, estas empresas produjeron 82.285 toneladas de piensos medicamentosos de predestete y transición y 53.944 toneladas de pienso medicamentoso de precebo, lo que representa un 27.5% y un 17.2% del pienso medicamentoso destinado a las primeras etapas de vida (1 a 70 días de edad) y al engorde producido en Catalunya en el 2012, respectivamente (Generalitat de Catalunya, 2013). Por otra parte, la producción de pienso que incluyen antibióticos destinados a cerdas gestantes fue mucho menor, representando un 9% de los piensos medicamentosos y un 6.7% de la producción total de piensos compuestos para gestantes (Generalitat de Catalunya, 2012b). Dos empresas no fabricaban pienso de iniciación o predestete, sino que utilizaban el primer pienso de transición (prestarter) durante el periodo de lactancia de los lechones.

En la tabla 15 se presentan las toneladas de cada pienso medicamentoso producido en base al antimicrobiano utilizado.

**Tabla 15: Cantidad anual (Tm) de pienso medicamentoso según el principio activo y el porcentaje que representa del total de pienso fabricado en cada fase**

Principio activo	Predestete (1-24 días)	(%)	Crecimiento (27-70 días)	(%)	Entrada a engorde	(%)	Total lechones	(%)	Cerda gestante	(%)
Amoxicilina	4770	95	71535	87	-	-	75612	54	2600	45
Colistina	5030	100	39005	47	49960	93	93302	66		
Oxitetraciclina	-	-	-	-	10560	20	10560	7	2561	44
Clortetraciclina	-	-	41823	51	7484	14	49307	35	768	13
Doxiciclina	-	-	-	-	8800	16	8800	6		
Lincomicina	-	-	35470	43	3984	7	39454	28		
Tiamulina	-	-	-	-	19360	36	19360	14	768	13
Tilosina	-	-	-	-	3500	6	3500	2	475	8
Óxido de Zinc	5030	100	77255	94	-	-	82285	58		
Penicilina V	-	-	-	-	24600	46	24600	17		
Sulfadiazina	-	-	-	-	2500	5	2500	2		
Trimetoprim	-	-	-	-	2500	5	2500	2		

Los antimicrobianos más usados, en función de los kilogramos de pienso medicamentoso producido en las primeras etapas de engorde en lechones, fueron colistina (66%) y amoxicilina (54%). En cerdas gestantes, amoxicilina y tetraciclinas son los más utilizados aunque el uso de antimicrobianos en pienso en estos animales es mucho menor que en lechones, de hecho, la empresa que más pienso de gestante producía (empresa 6) no utilizaba antimicrobianos en esta etapa productiva. El conjunto de tetraciclinas (mayoritariamente clortetraciclina) representó un 48% de todas las medicaciones en lechones. Por último, el óxido de zinc se usó en un 100% de los piensos de lechones hasta 70 días de vida. La tabla 16 muestra los kilogramos anuales de cada principio activo utilizados por las empresas encuestadas según la etapa productiva.

**Tabla 16: Cantidades anuales (kg) de principio activo en función de la etapa productiva y el porcentaje respecto del total. La fase de crecimiento incluye el pienso prestarter y starter**

Principio Activo	Predestete (1-24 días)	Crecimiento (24-70 días)	Entrada a engorde	Total lechones (kg)	Total lechones (%)	Total lechones (%)*	Cerdas gestantes (kg)	Cerdas gestantes (%)
Amoxicilina	1431	19291		20722	10	26	680	27
Colistina	604	5140	3463	9149	4	12		
Oxitetraciclina			4224	4224	2	5	1177	47
Clortetraciclina		23887	3790	27677	13	35	384	15
Doxiciclina			2200	2200	1	3		
Lincomicina		3524	438	3962	2	5		
Tiamulina			1936	1936	1	2	196	8
Tilosina			350	350	0	0	48	2
Óxido de Zinc	12844	113443		126287	61	-		
Penicilina			7380	7380	4	9		
Sulfadiacina			1250	1250	1	2		
Trimetoprim			250	250	0.1	0.3		

\*Excluyendo óxido de zinc

Un 61% de los kg de principio activo utilizado en lechones correspondió a óxido de zinc ya que su dosificación en pienso osciló entre 1200 y 3100 mg/kg de pienso (ver Tabla 17), seguido de clortetraciclina (13%) y de amoxicilina (10%). En cerdas gestantes, casi la mitad de antimicrobianos utilizados correspondió a oxitetraciclina (47%), con un rango de inclusión en pienso de 400 a 600 mg/kg.

De las cantidades de pienso de cada fase fabricadas por cinco de las empresas encuestadas y de los consumos por animal se pudo extrapolar el número de animales que consumieron cada uno de los piensos. La última facilitó el número de cerdos totales producido en base a estos piensos:

**Tabla 17: Número de cerdos producidos en un año por cada empresa y por tipo de pienso**

Empresa	Ubicación	N.º animales por tipo de pienso (en millones)			
		Predestete (1-24 días)	Transición (24-70 días)		Entrada a engorde
		Lactoiniciador	Prestarter	Starter	Precebo
1	Barcelona	0.4	0.4	0.4	0.4
2	Barcelona	-	0.3	0.3	0.3
3	Lleida	0.3	0.4	0.2	0.2
4	Lleida	-	0.5	0.5	0.2
5	Lleida	0.8	0.7	0.7	0.7
6	Lleida	2.1	2.1	2.1	2.1
	<b>Total</b>	<b>3.6</b>	<b>4.4</b>	<b>4.2</b>	<b>3.9</b>



Mediante estos datos, se calculó la exposición a cada antimicrobiano en base al número de animales que consumieron los diferentes tipos de pienso, según se recoge en la tabla siguiente:

**Tabla 18: Porcentaje de animales tratados anualmente con cada antimicrobiano**

Principio activo	Predestete (1-24 días)	Prestarter (24-42 días)	Starter (42-70 días)	Entrada a engorde (primeros 15 días)
Amoxicilina	80 (2.9)	100 (4.4)	90 (3.8)	
Colistina	100 (3.6)	100 (4.4)	45 (1.9)	94 (3.7)
Oxitetraciclina				18 (0.7)
Clortetraciclina			66 (2.8)	12 (0.5)
Doxiciclina				11 (0.4)
Lincomicina			60 (2.5)	6 (0.2)
Tiamulina				29 (1.1)
Tilosina			6 (0.2)	6 (0.2)
Óxido de Zinc	100 (3.6)	100 (4.4)	78 (3.3)	
Penicilina V				53 (2.1)
Sulfadiazina				6 (0.3)
Trimetoprim				6 (0.3)

Entre paréntesis, el número de animales según la fase productiva (en millones).

Los resultados de la tabla anterior muestran que los tratamientos en pienso están muy estandarizados, sobre todo en las etapas más tempranas (hasta los 42 días de vida), donde los lechones producidos por las diferentes empresas fueron alimentados con piensos medicamentosos que contenían colistina y óxido de zinc (100% de los animales) y amoxicilina (80% de los animales en lactación y un 100% en pienso prestarter). En los piensos starter la amoxicilina y el óxido de zinc siguen siendo mayoritarios (90% y 78% de los animales). Sin embargo, es en entrada a engorde cuando existe una mayor variedad de tratamientos, aunque la colistina sigue siendo uno de los más utilizados (94%).

En la tabla 19 se muestra la frecuencia de las combinaciones de antimicrobianos que se utilizan en cada fase productiva y el porcentaje de animales expuestos:

**Tabla 19: Frecuencia de cada combinación de antimicrobianos y óxido de zinc por tipo de pienso y porcentaje de animales expuestos a cada combinación**

Fase	Tipo de pienso	Combinación	Frecuencia*	Porcentaje de animales expuestos a la combinación	Duración de los tratamientos (días)
Predestete (1-26 días)	Lactoiniciador	Colistina + OZn	4%	8 (0.3)	> 7
		AMX + C + OZn	96%	92 (3.3)	
Crecimiento (27-75 días)	Prestarter	AMX + C + OZn	100%	100 (4.2)	>14
	Starter	AMX + C + OZn	20%	24 (1.0)	14-28
		LCM/SPM + C + OZn	10%	10 (0.4)	
		CTC+TLS+AMX+C+OZn	7%	5 (0.2)	
		CTC+AMX+LCM+OZn	50%	50 (2.1)	
		CTC+AMX+C	13%	12 (0.5)	
Entrada a Engorde	Pre-cebo	TC <sup>t</sup> +TML+C	36%	28 (1.1)	15
		CTC+TLS+C	6%	5 (0.2)	
		SLF/TMP+C	5%	8 (0.3)	
		CTC+LCM	7%	5 (0.2)	
		PNC V + C	46%	54 (2.1)	

Entre paréntesis, el número de animales (x millón).

Fase	Tipo de pienso	Combinación	Frecuencia*	Duración de los tratamientos (días)
Cerdas	Cerdas gestantes	OTC + AMX	2	8-10
		TLS	1	
		AMX	6	
		TC <sup>t</sup> + TML	8	
		Sin antimicrobiano	83	

\*Calculado en función de los kg de cada tipo de pienso producido por cada empresa respecto del total

<sup>t</sup>TC=Oxitetraciclina/Doxiciclina; OZn=Óxido de Zinc; TLS= Tilosina; CTC=Clortetraciclina; C=Colistina; LCM=Lincomicina; SPM=Espectinomocina; OTC=Oxitetraciclina; AMX=Amoxicilina; TML=Tiamulina; SLF\*TMP=Sulfadiacina+Trimetoprim

La combinación de amoxicilina, óxido de zinc y colistina fue la más utilizada en lechones de hasta 42 días. A partir de la fase de pienso starter (42 a 70 días de vida), es cuando empieza una mayor variedad de combinaciones, donde la mitad de los animales de todas

las empresas encuestadas recibieron pienso medicamentoso en base a la combinación clortetraciclina/amoxicilina/lincomicina, mientras que en entrada a engorde fue la combinación fenoximetilpenicilina/colistina la más utilizada (54%, por número de animales expuestos).

La tabla 20 compara los tratamientos reales realizados en pienso para lechones (de 0 días a entrada a cebo) con la posología de cada principio activo y sus posibles interacciones según la ficha técnica de los medicamentos registrados en la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios.

**Tabla 20: Dosificación en pienso, duración de los tratamientos e interacciones de antimicrobianos; comparación de su uso real y el indicado en la ficha técnica de los productos comerciales utilizados en piensos de lechones**

Dosificación/duración del tratamiento/interacciones según FT del medicamento
Dosificación/duración del tratamiento menor al recomendado en la FT del medicamento
Interacciones/Dosificación/duración del tratamiento mayor al recomendado en la FT del medicamento

Empresa	Principio activo	Dosificación real en pienso (ppm)	Rango de dosificación según FT (ppm)	Dosis (mg/kg p.v.)	Duración real del tratamiento (días)	Duración recomendada según FT (días)	Interacciones	Interacciones según FT
1	Amoxicilina	300	300-450	15-20	21	5-15		No administrar junto con agentes antiinfecciosos bacteriostáticos (tetraciclinas, sulfamidas, espectinomycin, trimetoprima, cloranfenicol, macrólidos y lincosamidas). No usar simultáneamente con neomicina ya que bloquea la absorción de las penicilinas orales. No usar conjuntamente con antibióticos que inhiban la síntesis proteica bacteriana ya que pueden antagonizar la acción bactericida de las penicilinas, excepto con antibióticos aminoglucósidos que están recomendados para su uso con penicilinas
2		225-300			28			
3		250			36		CTC/TLS	
4		300			42		CTC	
5		300			43			
6		240-300			21		CTC/LMC	

Empresa	Principio activo	Dosificación real en pienso (ppm)	Rango de dosificación según FT (ppm)	Dosis (mg/kg p.v.)	Duración real del tratamiento (días)	Duración recomendada según FT (días)	Interacciones	Interacciones según FT
1	Colistina	120-160	100-250	5-10	56	7	AMX/DOX	La colistina es sinérgica con gran variedad de antimicrobianos, entre ellos: Beta-lactámicos, eritromicina, tetraciclinas, sulfamidas, trimetoprim y bacitracina. Su acción es inhibida por cationes bivalentes como el Ba <sup>2+</sup> , Ca <sup>2+</sup> y Mg <sup>2+</sup> ; ácidos grasos insaturados y los compuestos de amonio cuaternario. No se han descrito antagonismos con otros antibióticos cuando se administra por vía oral
2		120			38		AMX/SLF*TMP	
3		120			95		AMX/CTC	
4		150			42		AMX/CTC	
5		120			53		AMX/OTC	
6		120-160			30		AMX/DOX/PNC V	
1	Óxido de Zinc	3100	1500-3100	50-100	21	14 (postdestete)		La biodisponibilidad oral del zinc puede variar debido a la capacidad de este ión de interactuar con otros elementos como el calcio, el cobre y el hierro. La adsorción de zinc se puede ver reducida por la ingesta de elevados niveles de fitato y fósforo
2		1500-3000			28			
3		1500-3000			60			
4		3000			14			
5		2000-3000			43			
6		3100			43			

Empresa	Principio activo	Dosificación real en pienso (ppm)	Rango de dosificación según FT (ppm)	Dosis (mg/kg p.v.)	Duración real del tratamiento (días)	Duración recomendada según FT (días)	Interacciones	Interacciones según FT
3	Clortetraciclina	400-500	100-400	5-20	33	5-hasta remisión de síntomas	AMX	No administrar junto con antibióticos bactericidas, tales como los antibióticos betalactámicos (penicilinas y cefalosporinas), ya que la clortetraciclina puede reducir su actividad antibacteriana
4		500-600			43		AMX	
6		600			25		AMX	
5	Oxitetraciclina	400	55-750	2.5-30	10	14 días en leptospirosis o hasta remisión de síntomas		No administrar de forma conjunta con antibacterianos bactericidas. - No administrar con cationes polivalentes (sales de calcio, leche y productos lácteos). - Se presentan resistencias cruzadas entre los miembros del grupo
1	Doxiciclina	250	250	10-12.5	15	5-8		La absorción de doxiciclina se disminuye en presencia de altas concentraciones de calcio, hierro, magnesio y aluminio en la dieta. No administrar conjuntamente con antiácidos, caolín o preparaciones de hierro. No combinar con agentes antimicrobianos bactericidas tales como la penicilina y las cefalosporinas La doxiciclina incrementa la acción de los anticoagulantes

Empresa	Principio activo	Dosificación real en pienso (ppm)	Rango de dosificación según FT (ppm)	Dosis (mg/kg p.v.)	Duración real del tratamiento (días)	Duración recomendada según FT (días)	Interacciones	Interacciones según FT
1	Tiamulina	100	40 (preventivo) 100-250	2 (preventivo)- 10	15	30 (preventivo) 7-14		La combinación en el pienso de tiamulina con coccidiostáticos del tipo antibióticos ionóforos poliéteres carboxílicos monovalentes (Monensina, salinomicina o narasina) puede producir anorexia, diarrea, ataxia, letargo, disnea, mioglobinuria y muerte en los cerdos
5		100			10			
3	Tilosina	150	80-100	3-6	18	21*	CTC	Florfenicol, lincosaminas y otros antibióticos macrólidos, al tener una acción similar a tilosina, interaccionan al competir por la unión en la subunidad 50S, por lo que no está recomendado su uso simultáneo. Tetraciclinas, sulfamidas y estreptomina interaccionan con tilosina (cada uno de ellos por separado), potenciando su actividad, cuando se usan simultáneamente con tilosina
6	Fenoximetil penicilina	300	200	10	14	14-42		No administrar conjuntamente con antibióticos bacteriostáticos ni con sulfamidas y salicilatos

Empresa	Principio activo	Dosificación real en pienso (ppm)	Rango de dosificación según FT (ppm)	Dosis (mg/kg p.v.)	Duración real del tratamiento (días)	Duración recomendada según FT (días)	Interacciones	Interacciones según FT
2	Sulfadiazina/Trimetoprim	500/100	500/100	25/5	10	5		No debe administrarse simultáneamente con ácido para-aminobenzoico (PABA) y sus derivados (procaína, benzocaína, tetracaína, etc.) ni, en general, con sustancias o piensos que aporten o liberen PABA y/o ácido fólico. No debe administrarse junto con anticoagulantes orales ni acidificantes de la orina
4	Lincomicina	110	44 (preventivo) 88-220	2.2 (preventivo) 4.4-11	15	21 o hasta remisión de síntomas		No administrar conjuntamente con antibióticos macrólidos ni cloranfenicol
6		110			20			
1	Lincomicina/ Espectinomina	44/44	22-44/22-44	2.2-4.4/2.2-4.4	20	4-21		No administrar conjuntamente con macrólidos ni aminoglucósidos

\* En alguna FT de premezclas a base de tilosina se recomienda que para la prevención y control de neumonía enzoótica, rinitis atrófica y disentería porcina, el uso de tilosina a una dosificación menor (40 mg/kg pienso) se prolongue mientras dure el periodo de riesgo.



La tabla 21 compara los tratamientos reales realizados en pienso para cerdas gestantes con la posología de cada principio activo según el resumen de las características de los medicamentos registrados en la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios.

**Tabla 21: Dosificación en pienso, duración de los tratamientos e interacciones de antimicrobianos; comparación de su uso real y el indicado en la ficha técnica de los productos comerciales utilizados en piensos de cerdas gestantes**

Empresa	Principio Activo	Dosificación real en pienso (ppm)	Rango de dosificación según FT (ppm)	Dosis (mg/kg p.v.)	Duración real del tratamiento (días)	Duración recomendada según FT (días)	Interacciones	Interacciones según FT
1	Amoxicilina	300	300-450	15-20	8	15	OTC	No administrar junto con agentes antiinfecciosos bacteriostáticos (tetraciclinas, sulfamidas, espectinomicina, trimetoprima, cloranfenicol, macrólidos y lincosamidas). No usar simultáneamente con neomicina ya que bloquea la absorción de las penicilinas orales. No usar conjuntamente con antibióticos que inhiban la síntesis proteica bacteriana ya que pueden antagonizar la acción bactericida de las penicilinas, excepto con antibióticos aminoglucósidos que están recomendados para su uso con penicilinas
3		250			7			
4	Clortetraciclina	500	100-400	5-20	14	5-hasta remisión de síntomas		No administrar junto con antibióticos bactericidas, tales como los antibióticos betalactámicos (penicilinas y cefalosporinas), ya que la clortetraciclina puede reducir su actividad antibacteriana

Empresa	Principio Activo	Dosificación real en pienso (ppm)	Rango de dosificación según FT (ppm)	Dosis (mg/kg p.v.)	Duración real del tratamiento (días)	Duración recomendada según FT (días)	Interacciones	Interacciones según FT
1	Oxitetraciclina	900	55-750	2.5-30	8	14 días en leptospirosis o hasta remisión de síntomas	AMX	No administrar de forma conjunta con antibacterianos bactericidas. - No administrar con cationes polivalentes (sales de calcio, leche y productos lácteos). - Se presentan resistencias cruzadas entre los miembros del grupo
5		600			10			
4	Tiamulina	200	40 (preventivo) 100-250	2 (preventivo)- 10	14	30 (preventivo) 7-14		La combinación en el pienso de tiamulina con coccidiostáticos del tipo antibióticos ionóforos poliéteres carboxílicos monovalentes (Monensina, salinomina o narasina) puede producir anorexia, diarrea, ataxia, letargo, disnea, mioglobinuria y muerte en los cerdos
5		100			10			
2	Tilosina	100	80-100	3-6	7	21		Florfenicol, lincosaminas y otros antibióticos macrólidos, al tener una acción similar a tilosina, interaccionan al competir por la unión en la subunidad 50S, por lo que no está recomendado su uso simultáneo. Tetraciclinas, sulfamidas y estreptomina interaccionan con tilosina (cada uno de ellos por separado), potenciando su actividad, cuando se usan simultáneamente con tilosina

## **4.2 Resultados analíticos**

### **4.2.1 Análisis de las concentraciones plasmáticas de clortetraciclina**

El método analítico para la cuantificación de CTC en plasma de cerdo fue validado en el *Servei d'Anàlisi de Fàrmacs* de la UAB. El límite de cuantificación fue de 0.2 µg/mL. El rango de calibración fue de 0.2 a 10 µg/mL. Los resultados del estudio de validación se encuentran en el Apéndice 2.

### **4.2.2 Análisis de las concentraciones plasmáticas de oxitetraciclina**

El método analítico para la cuantificación de OTC en plasma de cerdo fue validado en el *Servei d'Anàlisi de Fàrmacs* de la UAB. El límite de cuantificación fue de 0.2 µg/mL. El rango de calibración fue de 0.2 a 10 µg/mL. Los resultados del estudio de validación se encuentran en el Apéndice 2.

### **4.2.3 Análisis de las concentraciones plasmáticas de tilosina**

El método analítico para la cuantificación de TLS en plasma de cerdo fue validado en el *Servei d'Anàlisi de Fàrmacs* de la UAB. El límite de cuantificación fue de 0.01 µg/mL. El rango de calibración fue de 0.01 a 1 µg/mL. Los resultados del estudio de validación se encuentran en el Apéndice 2.

No se pudieron determinar las concentraciones plasmáticas de tilosina ya que no fue posible su detección mediante el método analítico disponible en el laboratorio. Se realizaron pruebas analíticas en el *Servei d'Anàlisi de Fàrmacs* del *Departament de Farmacologia, Terapèutica i Toxicologia* de la UAB donde se prepararon técnicas analítica para la determinación de la tilosina en plasma y sangre entera. Aunque las curvas de calibración, *quality controls*, etc. a un límite de cuantificación de 0.05µg de TLS/ml eran perfectamente cuantificables, ninguna de las muestras presentó concentraciones por encima de este valor. Se realizaron pruebas de estabilidad de la TLS en condiciones de conservación de las muestras, mostrándose el fármaco estable a -30 °C durante un periodo de 90 días. La conclusión final de los estudios sobre los métodos analíticos fue que los niveles de TLS en sangre son tan bajos que no llegan a ser detectados.

## **4.3 Animales sanos**

### **4.3.1 Selección de los animales sanos**

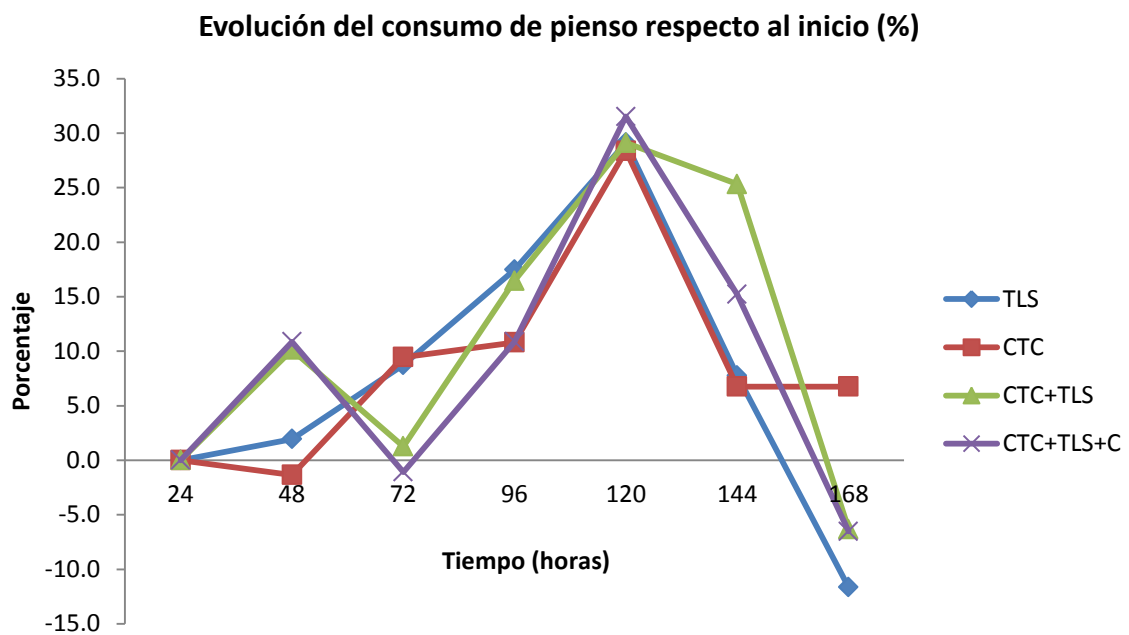
La inspección veterinaria previa a la inclusión de los animales en el estudio confirmó el buen estado sanitario de los mismos. Además, no se observó ningún síntoma de enfermedad en las observaciones diarias realizadas durante la fase experimental del estudio.

### **4.3.2 Consumo de pienso**

El consumo medio de pienso diario por animal durante el estudio fue de  $1.0 \pm 0.2$  kg para los animales tratados con Tilosina (TLS) y Óxido de Zinc,  $0.8 \pm 0.1$  kg para los tratados con Clortetraciclina (CTC) y Óxido de Zinc,  $0.9 \pm 0.1$  kg para la combinación CTC+TLS+OZn y  $1.0 \pm 0.2$  kg para el grupo tratado con CTC+TLS+Colistina+OZn.

Se detectaron diferencias significativas ( $p=0.003$ ) entre los consumos de pienso medicamentoso de los diferentes grupos experimentales al aplicar un test ANOVA de un factor (grupo). Al aplicar un test de Tukey se comprobó que estas diferencias eran debidas principalmente a un mayor consumo de pienso del grupo tratado con TLS+ OZn con respecto a los grupos tratados con CTC + OZn y CTC+TLS+OZn.

El grupo tratado con Tilosina (TLS) y Óxido de Zinc presentó un incremento de consumo más gradual que el resto de grupos, aunque todos los grupos de tratamiento presentaron un máximo de incremento de 29.1% (TLS+ OZn), 28.4% (CTC+ OZn), 29.1% (CTC+TLS+ OZn) y 31.5% (CTC+TLS+C+OZn) a las 120 h posteriores al inicio del tratamiento. La bajada de consumo generalizada que se aprecia en el último día de tratamiento fue debida a que la lectura del consumo de pienso se realizó unas horas antes que el resto de días para iniciar el muestreo de sangre.



**Figura 6:** Aumento del consumo de pienso respecto a la ingesta de las primeras 24 horas (%) en los diferentes grupos de tratamiento

### 4.3.3 Pesos corporales

Se comprobó mediante un test de Shapiro-Wilks que los pesos de los animales en cada uno de los grupos experimentales seguían una distribución normal. Además, se comprobó mediante un test ANOVA que no había diferencias entre grupos al inicio del estudio ( $p=0.443$ ). Se detectaron diferencias significativas entre los grupos de tratamiento al aplicar un modelo ANCOVA utilizando el día 1 como covariable.

El incremento de peso de los grupos tratados con TLS, CTC+TLS y CTC+TLS+C fue muy similar entre ellos ( $0.4 \pm 0.1$  kg/día;  $0.4 \pm 0.04$  kg/día;  $0.4 \pm 0.1$  kg/día, respectivamente). Estos valores son un 25% mayores que el presentado por el grupo tratado con CTC ( $0.3 \pm 0.1$  kg/día). Estas diferencias fueron estadísticamente significativas ( $p = 0.0005$ ).

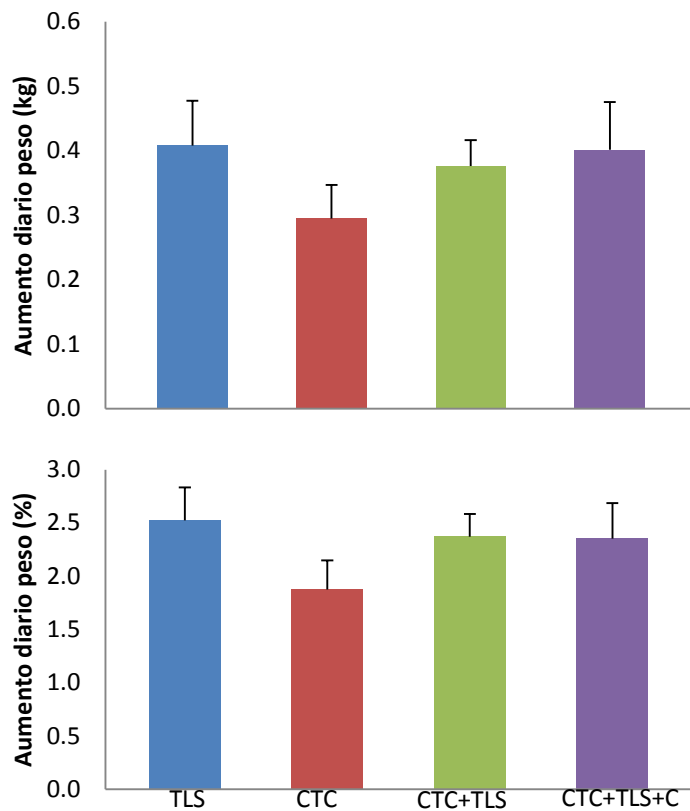


Figura 7: Promedio del aumento de peso diario observado entre los días 0 y 8, expresados en kilogramos o como porcentaje del peso inicial de los animales correspondientes a los diferentes grupos

#### 4.3.4 Dosis administradas

La tabla 22 representa las dosis medias (mg/kg p.v./día) de fármaco ingerido por los animales en cada uno de los grupos experimentales:

Tabla 22: Dosis estimadas de antimicrobiano ingerido en cada grupo de administración

Principio activo (mg/kg peso)	Dosificación en pienso (mg/kg pienso)	Grupo A (TLS+OZn)	Grupo B (CTC+OZn)	Grupo C (TLS + CTC+OZn)	Grupo D (TLS + CTC + C+OZn)
Tilosina	100	4.9 ± 1.0	-	4.7 ± 0.6	4.7 ± 1.0
Clortetraciclina	266	-	11.6 ± 1.1	12.5 ± 1.9	13.1 ± 3.4
Colistina	120	-	-	-	5.3 ± 1.3
Óxido de Zinc	1500	71.4 ± 17.7	63.3 ± 8.1	67.8 ± 11.6	64.7 ± 16.2

No se observaron diferencias significativas entre grupos en las dosis ingeridas para ninguno de los fármacos administrados (Tilosina, Clortetraciclina y Óxido de Zinc).

#### 4.3.5 Concentraciones plasmáticas

En ninguna de las muestras analizadas fue posible detectar tilosina. Todas las muestras de plasma de todos los animales presentaron niveles de tilosina por debajo del límite de detección de la técnica analítica (0.0026  $\mu\text{g/mL}$ ).

La figura siguiente representa las curvas tiempo-concentración plasmáticas medias de clortetraciclina correspondientes al último día de administración *ad libitum* de pienso medicamentoso.

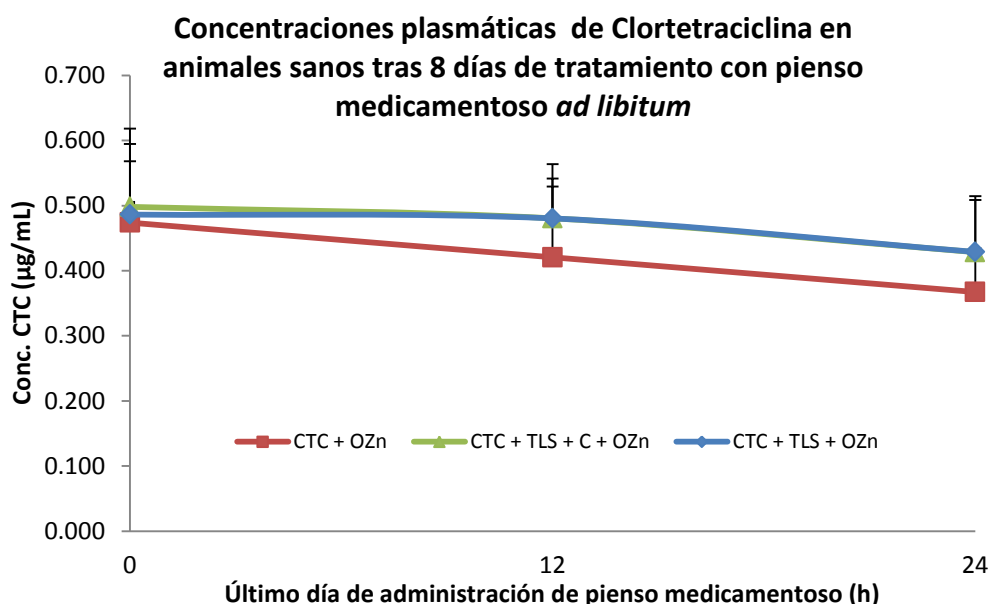


Figura 8: Curvas tiempo-concentración plasmática (media grupal) de clortetraciclina entre 168, 180 y 192 h desde el inicio del tratamiento en los diferentes grupos experimentales

Todos los animales presentaron concentraciones cuantificables en todos los puntos de muestreo, las cuales oscilaron entre 0.27 y 0.69  $\mu\text{g/mL}$  en el grupo CTC + OZn, 0.29 y 0.77  $\mu\text{g/mL}$  (CTC + TLS + OZn) y entre 0.36 y 0.74  $\mu\text{g/mL}$  en el grupo tratado con CTC + TLS + C + OZn. Las concentraciones plasmáticas medias de clortetraciclina durante el último día de administración de los piensos medicamentosos fueron ligeramente inferiores en el grupo tratado con CTC + OZn con respecto a los otros dos grupos (CTC + TLS + C + OZn y CTC + TLS + OZn), aunque estas diferencias no resultaron estadísticamente significativas para ninguno de los tiempos de muestreo. Las concentraciones plasmáticas individuales de clortetraciclina se describen en el Apéndice 3.

La tabla 23 representa los parámetros farmacocinéticos de clortetraciclina en animales sanos.

#### 4.3.6 Parámetros farmacocinéticos

La tabla 23 representa los parámetros farmacocinéticos de clortetraciclina en animales sanos.

Los valores considerados como máximos y mínimos, de acuerdo a la curva promedio, así como la AUC de los diferentes grupos de tratamiento fueron comparados estadísticamente, aunque no se encontraron diferencias estadísticas para ninguno de los parámetros considerados.

**Tabla 23: Parámetros farmacocinéticos (media grupal) de clortetraciclina en cerdos sanos tras la administración de pienso medicado con diferentes combinaciones de antimicrobianos**

Grupo	Dosis de CTC (mg/kg pv)	Parámetro							
		AUC <sub>0-t</sub> (µg·h/mL)		C <sub>max</sub> (µg/mL)		C <sub>min</sub> (µg/mL)		MRT (h)	
		Media	D.E.	Media	D.E.	Media	D.E.	Media	D.E.
CTC + OZn	11.6 ± 1.1	10.09	1.66	0.48	0.10	0.36	0.08	11.26	0.39
CTC + TLS + OZn	12.5 ± 1.9	11.25	1.82	0.53	0.10	0.40	0.05	11.65	0.56
CTC + TLS + C + OZn	13.1 ± 3.4	11.32	1.68	0.54	0.11	0.40	0.05	11.58	0.91

## 4.4 Animales enfermos

### 4.4.1 Granja Artesa de Lleida

#### 4.4.1.1 Descripción de la granja y los tratamientos

La granja es un engorde integrado situado en Artesa de Lleida (Lleida) con una capacidad total de 1870 cerdos. El peso medio de los animales a la entrada fue de 18 kg.

Los cerdos utilizados, de raza (Landrance x Largewhite x Duroc) x Pietrain, se encontraban en una nave con una capacidad total de 830 cerdos alojados en corrales de 22-24 animales y alimentados con un pienso de entrada en cebo granulado administrado durante 5 ó 9 días anteriores al inicio del tratamiento (30 y 15 animales, respectivamente) y medicado según la tabla 24.



**Tabla 24: Producto comercial, principio activo y nivel de inclusión en pienso de antimicrobianos utilizados**

Nombre comercial	Principio activo	Dosificación en pienso (mg/kg pienso)
Trelacon G 250 premezcla	Tilosina	100
CLORTETRACICLINA LSP 10% premezcla	Clortetraciclina	400
Colimix 100 mg/g	Colistina	120
Apsamix Zinc 1000 mg/g	Óxido de Zinc	1500

La granja era positiva a PRRS y en el momento de la prueba había animales con sintomatología compatible con la enfermedad de Glässer. Además de las medicaciones en pienso, los animales se medicaron, de acuerdo con el criterio clínico de la veterinaria responsable, con dos inyecciones intramusculares separadas 72 horas de 2.5 mL de Amoxoil Retard (Laboratorios SYVA, S.A.U) y 0.5 mL de Cordexvall (MEVET, S.A.U) por animal, equivalentes a 20.8 mg de amoxicilina/kg p.v y 0.05 mg/kg p.v. de dexametasona respectivamente, calculadas teniendo en cuenta un peso medio de 18 kg. Las inyecciones se administraron 72 horas antes y durante el mismo día de muestreo de los animales. Estas dosis y los intervalos de dosificación difieren de los recomendados en la ficha técnica de los medicamentos (15 mg/kg de amoxicilina repetida a las 48h y 0.08 mg de dexametasona repetida cada 24h).

#### 4.4.1.2 Selección de los animales con enfermedad

Se escogieron 45 animales (31 machos y 14 hembras) que presentaban retraso en el crecimiento (visualmente más peludos y delgados que el resto), con sintomatología respiratoria y/o digestiva y a los que se les tomó la temperatura rectal. Dieciocho animales (13 machos y cinco hembras) se encontraban alojados en corrales “enfermería” con otros animales que también habían sido aislados de diferentes corrales. El resto se alojaban en corrales junto con animales sanos. En la tabla 25 se presenta un resumen de los criterios clínicos y de los resultados de la evaluación serológica de los animales.

**Tabla 25: Resumen de los resultados clínicos y pruebas adicionales considerados en el diagnóstico de enfermedad en la granja de Artesa de Lleida**

EVALUACIÓN	RESULTADOS	
Clínica	<u>Criterios clínicos</u>	<u>Porcentaje de afectados (n=45)</u>
	Alteración de la respiración	54%
	Disnea	47%
	Disnea severa	7%
	Secreción nasal	2%
	Tos	13%
	Temperatura Rectal ( $\geq 39.5$ °C)	53%
	Retraso en el crecimiento	98%
	Diarrea	7%
$T^a \geq 39.5$ °C/Otros signos	33%	
Serológica	<u>Positivos (n=22)</u>	
	PRRS	40.91%

La mayoría de animales presentaba retraso en el crecimiento (98%) y un 60% presentaba algún síntoma respiratorio (alteración de la respiración, secreción nasal y/o tos). Ningún animal presentaba actividad motora disminuida, lo cual aseguraba un cierto consumo de pienso medicamentoso. Aunque algo más de la mitad de los animales presentó cierto grado de hipertermia, el umbral de fiebre se estableció en 39.9 °C y, en consecuencia, un 22% de los animales se consideraron febriles al presentar temperaturas rectales por encima de este valor. El análisis serológico confirmó que la granja era endémica para el virus del Síndrome Respiratorio y Reproductivo Porcino (PRRS).

#### 4.4.1.3 Consumo de pienso, dosis y pesos corporales

Dado que en esta granja los animales seleccionados estaban alojados en diferentes corrales, no fue posible medir el consumo de pienso por corral. No obstante, durante la prueba, los 540 cerdos alojados en la nave consumieron unos 6000 kg de pienso medicamentoso durante 9 días, por lo que se puede estimar un consumo medio por animal de 1.2 kg de pienso/día. El peso medio de los animales a la entrada en granja fue 18 kg. Si el crecimiento diario lo estimamos entre 0.4 kg (dato obtenido del estudio en animales sanos), el peso medio de los animales al final de los 9 días de tratamiento sería 21.6 kg.

Considerando una reducción en el consumo de pienso de un 50% en animales enfermos, y un 35% menos de peso corporal en comparación a animales sanos (según resultados

obtenidos en las granjas de Bellcaire d’Urgell y Ponts), se ha realizado una estimación de las dosis medias administradas a los animales de cada uno de los fármacos teniendo en cuenta las suposiciones anteriores (Tabla 26).

**Tabla 26: Dosificación en pienso, dosis estimada por animal y comparación con la ficha técnica antimicrobianos utilizados**

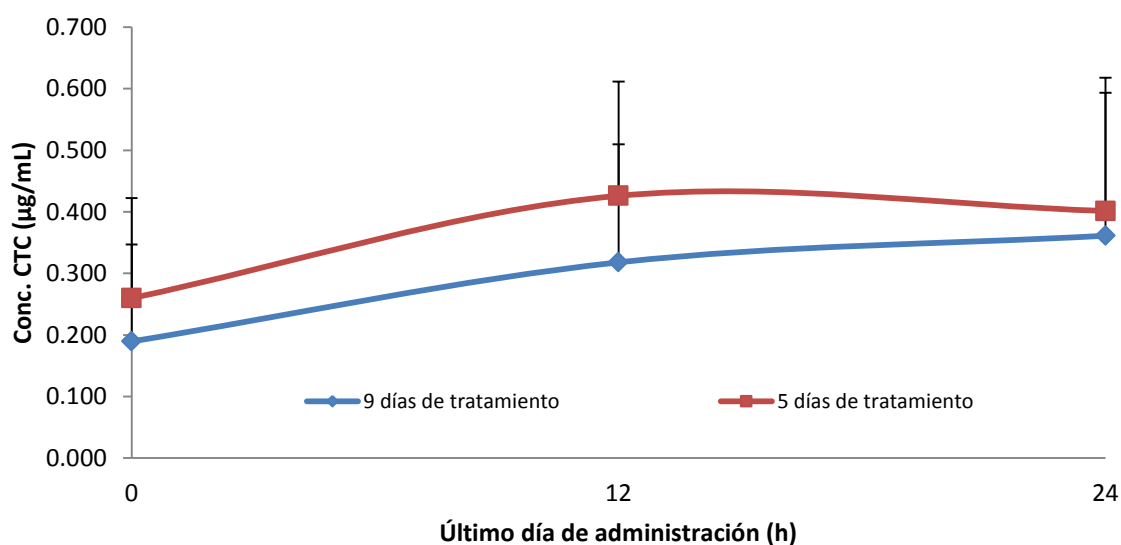
Principio activo (mg/kg peso)	Dosificación en pienso (mg/kg pienso)	Dosis estimada por animal (mg/kg pv)	Dosis según Ficha Técnica del Producto	
			mg/kg pv	mg/kg de pienso recomendado
Tilosina	100	3.8	3-6	100
Clortetraciclina	400	15.2	n.e.	100-400
Colistina	120	4.6	6	150
Óxido de Zinc	1500	57.2	100	3100

n.e.: no especificado

#### 4.4.1.4 Concentraciones plasmáticas

En ninguna de las muestras analizadas fue posible detectar tilosina. Todas la muestras de plasma de todos los animales presentaron niveles de tilosina por debajo del límite de detección de la técnica analítica (0.0026 µg/mL).

La figura 9 representa las curvas tiempo-concentración plasmáticas medias de clortetraciclina en cerdos tras 5 ó 9 días de administración de pienso medicamentoso *ad libitum*.



**Figura 9: Concentraciones plasmáticas de clortetraciclina en animales enfermos tras 9 o 5 días de tratamiento con pienso medicamentoso *ad libitum***

Las concentraciones plasmáticas medias de clortetraciclina fueron ligeramente superiores en los animales tratados durante 5 días, aunque no se detectaron diferencias significativas según la duración del tratamiento para ninguno de los tiempos de muestreo.

La mayoría de los animales (tratados durante 5 o 9 días) presentaron concentraciones cuantificables en todos los puntos de muestreo, las cuales oscilaron entre 0.01 y 0.96  $\mu\text{g/mL}$ . Las concentraciones plasmáticas individuales de clortetraciclina se describen en el Apéndice 3.

#### 4.4.1.5 Parámetros farmacocinéticos

La tabla 27 representa los parámetros farmacocinéticos de clortetraciclina en animales enfermos.

**Tabla 27: Parámetros farmacocinéticos (media grupal) de clortetraciclina en cerdos enfermos tras la administración de pienso medicamentoso durante 5 o 9 días**

Grupo (según duración del tratamiento)	Dosis de CTC (mg/kg pv)	Parámetro							
		AUC <sub>0-t</sub> ( $\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$ )		C <sub>max</sub> ( $\mu\text{g/mL}$ )		C <sub>min</sub> ( $\mu\text{g/mL}$ )		MRT (h)	
		Media	D.E.	Media	D.E.	Media	D.E.	Media	D.E.
9 días	15.2*	7.12	4.45	0.38	0.22	0.18	0.16	13.76	1.95
5 días		9.08	3.88	0.48	0.19	0.24	0.16	13.22	1.28

\*Dosis estimada

Los valores considerados como máximos y mínimos, de acuerdo a la curva promedio, así como la AUC de los diferentes grupos de tratamiento fueron comparados estadísticamente, aunque no se encontraron diferencias estadísticas para ninguno de los parámetros considerados.

## 4.4.2 Granja Belcaire d'Urgell

### 4.4.2.1 Descripción de la granja y los tratamientos

La granja es un engorde integrado situado en Belcaire d'Urgell (Lleida) con una capacidad total de 2200 cerdos. El peso medio de los animales a la entrada fue de 16 kg. Los cerdos utilizados, de raza híbrida TB2 (Batallé), se encontraban en una nave con una capacidad total de 950 cerdos alojados en corrales de 20 animales y alimentados con un pienso de entrada en cebo en harina administrado durante 11 días previos al muestreo y medicado según la tabla 28.

**Tabla 28: Producto comercial, principio activo y nivel de inclusión en pienso de antimicrobianos utilizados**

Nombre comercial	Principio activo	Dosificación en pienso (mg/kg pienso)
Ganamix Clortetraciclina 15% premezcla	Clortetraciclina	400
Lincovall 55 mg/g	Lincomicina	110

Previo a la administración de este pienso, los animales recibieron dos piensos medicamentosos: Uno administrado a la entrada durante 14 días a base de clortetraciclina (600 ppm, Ganamix Clortetraciclina 15% premezcla), colistina (150 ppm, Colimix 100 mg/g) y tiamulina (150 ppm, Denagard 100 premix) y otro pienso medicamentoso durante 8 días también a base de clortetraciclina (450 ppm), colistina (100 ppm) y tiamulina (150 ppm). Todos los animales de la granja se vacunaron contra la enfermedad de Auzdjesky 10 días después de la entrada (12 días antes del muestreo). Además, 7 días después de la entrada al engorde y a criterio del veterinario responsable, se medicó el agua de bebida con amoxicilina (30 g Lamox 800 mg/g/100 litros de agua) durante 7 días.

#### 4.4.2.2 Selección de los animales con enfermedad

Se escogieron 12 animales (siete machos y cinco hembras) que presentaban retraso en el crecimiento (visualmente más peludos y delgados que el resto), con sintomatología respiratoria y/o digestiva y a los que se les tomó la temperatura rectal. Una vez seleccionados, los animales se alojaron en un mismo corral lo que posibilitó medir el consumo de pienso de los animales. En la tabla 29 se presenta un resumen de los criterios clínicos evaluados de los animales.

**Tabla 29: Resumen de los resultados clínicos en el diagnóstico de enfermedad en la granja de Belcaire d'Urgell**

EVALUACIÓN	RESULTADOS	
	<u>Criterios clínicos</u>	<u>Porcentaje de afectados (n=12)</u>
Clínica	Alteración de la respiración	58%
	Disnea	58%
	Disnea severa	0%
	Secreción nasal	0%
	Tos	0%
	Temperatura Rectal ( $\geq 39.5$ °C)	42%
	Retraso en el crecimiento, palidez	83%
	Diarrea	0%
	$T^a \geq 39.5$ °C/Otros signos	33%

En general, la mayoría de los animales del corral presentaba una actividad motora reducida, retraso en el crecimiento y palidez generalizada con respecto a los corrales adyacentes de animales sanos. Un 58% de los animales presentaron disnea y en un 42% la temperatura rectal estuvo por encima de 39.5 °C, aunque sólo un 17% presentaban fiebre (>39.9 °C). Un animal presentó hipotermia y baja actividad motora durante todo el período de observación. Un tercio de los animales presentó, además de la temperatura elevada, otros signos clínicos combinados.

#### 4.4.2.3 Consumo de pienso, dosis y pesos corporales

El consumo diario medio de los animales enfermos fue de 0.515 kg/día y animal. Dada la condición de enfermedad de los animales y la disminución de consumo de pienso, el peso corporal fue aproximadamente un 34% inferior al peso esperado para animales de la misma edad y condiciones de engorde (19.8 kg de peso medio vs. 30 kg esperados, de acuerdo a la opinión del veterinario responsable). Las dosis medias de fármaco consumidas teniendo en cuenta el consumo medio de pienso y el peso de los animales se muestran en la tabla 30:

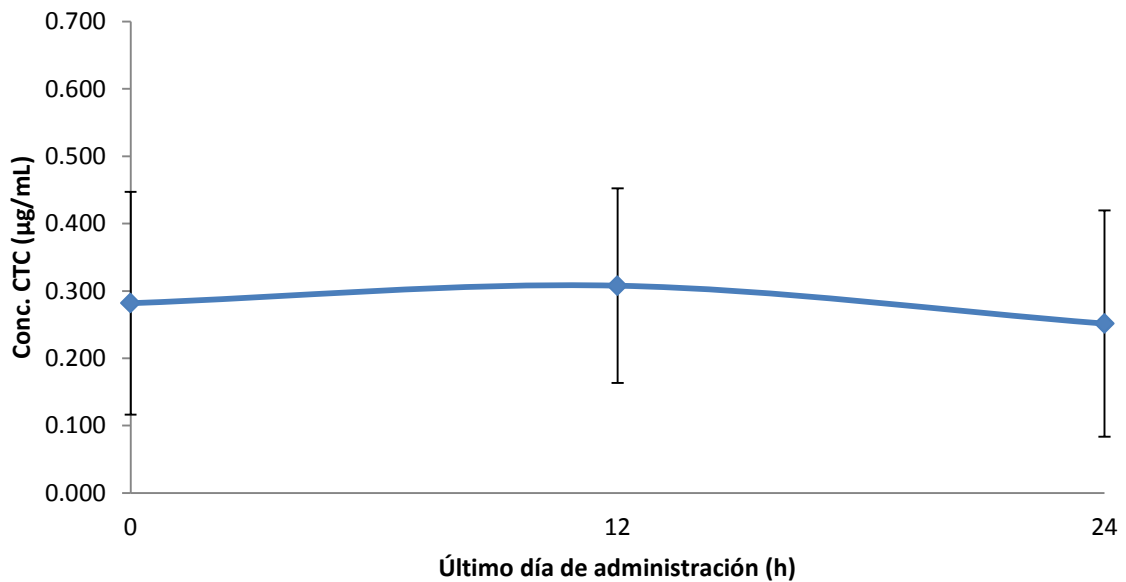
**Tabla 30: Dosificación en pienso, dosis estimada por animal y comparación con la ficha técnica antimicrobianos utilizados**

Principio activo (mg/kg peso)	Dosificación en pienso (mg/kg pienso)	Dosis estimada por animal (mg/kg pv)	Dosis según Ficha Técnica del Producto	
			mg/kg pv	mg/kg de pienso recomendado
Clortetraciclina	600*	16.36 ± 4.00	n.e.	100-400
Lincomicina	110	3.00 ± 0.73	4.4-8.8	Ajustar según consumo diario

\*Dosificación por encima de la recomendada en el ficha técnica de Ganamix Clortetraciclina 15% premezcla  
n.e.: no especificado

#### 4.4.2.4 Concentraciones plasmáticas

La figura siguiente representa las curvas tiempo-concentración plasmáticas medias de clortetraciclina en cerdos enfermos tras 11 días de administración de pienso medicamentoso con clortetraciclina y lincomicina *ad libitum*.



**Figura 10:** Concentraciones plasmáticas de clortetraciclina en animales enfermos tras 11 días de tratamiento con pienso medicamentoso *ad libitum*

Todos los animales presentaron concentraciones cuantificables en todos los puntos de muestreo, las cuales oscilaron entre 0.02 y 0.63 µg/mL. Las concentraciones plasmáticas individuales de clortetraciclina se describen en el Apéndice 3.

#### 4.4.2.5 Parámetros farmacocinéticos

La tabla 31 representa los parámetros farmacocinéticos de clortetraciclina en animales enfermos.

**Tabla 31:** Parámetros farmacocinéticos de clortetraciclina

Duración del tratamiento	Dosis de CTC (mg/kg pv)	Parámetro							
		AUC <sub>0-t</sub> (µg·h/mL)		C <sub>max</sub> (µg/mL)		C <sub>min</sub> (µg/mL)		MRT (h)	
		Media	D.E.	Media	D.E.	Media	D.E.	Media	D.E.
11 días	10.90 ± 2.66	6.93	3.41	0.34	0.14	0.22	0.16	11.46	1.35

### 4.4.3 Granja Ponts

#### 4.4.3.1 Descripción de la granja y los tratamientos

La granja es un engorde integrado situado en Ponts (Lleida) con una capacidad total de 2700 cerdos. El peso medio de los animales a la entrada fue de 20 kg. Los cerdos utilizados, de raza Landrace x Largewhite x Pietrain, se encontraban en una nave con una capacidad total de 630 cerdos alojados en corrales de 14 animales y alimentados con un pienso de entrada en cebo granulado administrado durante 9 días previos al muestreo y medicado según la tabla 32.

**Tabla 32: Producto comercial, principio activo y nivel de inclusión en pienso de antimicrobianos utilizados**

Nombre Comercial	Principio Activo	Dosificación en pienso (mg/kg pienso)
Pharmasin 250 mg/g	Tilosina	146.5
Oxitetraciclina 10% MAYMO	Oxitetraciclina	400
Nipoxyme 100	Colistina	100
Apsamix Zinc 1000 mg/g	Óxido de Zinc	1500

A criterio del veterinario responsable, todos los animales con sintomatología respiratoria fueron administrados con dos inyecciones intramusculares de florfenicol (Nuflor 300 mg/mL) separadas 5 días, empezando el tratamiento 4 días antes del muestreo.

#### 4.4.3.2 Selección de los animales con enfermedad

Se escogieron 12 animales (siete machos y cinco hembras) que presentaban retraso en el crecimiento (visualmente más peludos y delgados que el resto), con sintomatología respiratoria y/o digestiva y a los que se les tomó la temperatura rectal. Una vez seleccionados, los animales se alojaron en un mismo corral lo que posibilitó medir el consumo de pienso de los animales. En la tabla 33 se presenta un resumen de los criterios clínicos evaluados de los animales.



**Tabla 33: Resumen de los resultados clínicos considerados en el diagnóstico de enfermedad en la granja de Ponts**

EVALUACIÓN	RESULTADOS	
Clínica	<u>Criterios clínicos</u>	<u>Porcentaje de afectados (n=12)</u>
	Alteración de la respiración	92%
	Disnea	92%
	Disnea severa	0%
	Secreción nasal	0%
	Tos	0%
	Temperatura Rectal ( $\geq 39.5^{\circ}\text{C}$ )	42%
	Retraso en el crecimiento, palidez	100%
	Diarrea	0%
T <sup>a</sup> $\geq 39.5^{\circ}\text{C}$ /Otros signos	42%	

En general, todos los animales presentaban retraso en el crecimiento y palidez generalizada con respecto a los animales sanos. Un 58% de los animales presentaron disnea y en un 42% la temperatura rectal estuvo por encima de  $39.5^{\circ}\text{C}$ , aunque sólo un 17% (dos animales) presentaban fiebre ( $>39.9^{\circ}\text{C}$ ). En general, la actividad motora no estaba afectada. Un tercio de los animales presentó, además de la temperatura elevada, otros signos clínicos combinados.

#### 4.4.3.3 Consumo de pienso, dosis y pesos corporales

El consumo diario medio de los animales enfermos fue de  $0.400\text{ kg/día}$ . Dada la condición de enfermedad de los animales y la disminución de consumo de pienso, el peso corporal fue aproximadamente un 36% inferior al peso esperado para animales de la misma edad y condiciones de engorde ( $12.8 \pm 1.5\text{ kg}$  de peso medio vs.  $20\text{ kg}$  esperados, de acuerdo a la opinión del veterinario responsable). Las dosis medias de fármaco consumidas teniendo en cuenta el consumo medio de pienso y el peso de los animales se muestran en la tabla 34:

**Tabla 34: Dosificación en pienso, dosis estimada por animal y comparación con la ficha técnica de antimicrobianos utilizados**

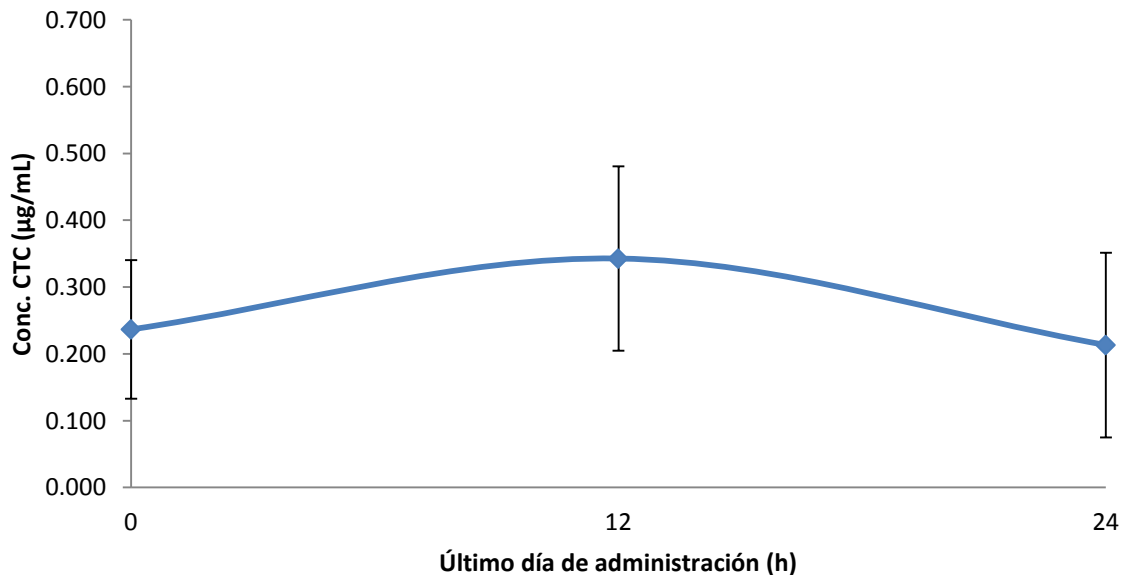
Principio Activo (mg/kg peso)	Dosificación en pienso (mg/kg pienso)	Dosis estimada por animal (mg/kg pv)	Dosis según Ficha Técnica del Producto	
			mg/kg pv	mg/kg de pienso recomendado
Tilosina	146.5	4.7 ± 0.6	4-5	40-1100
Oxitetraciclina	400	12.8 ± 1.6	n.e.	110-220
Colistina	100	3.2 ± 0.4	5	125
Óxido de Zinc	1500	47.8 ± 5.9	100	3100

n.e. no especificado

#### 4.4.3.4 Concentraciones plasmáticas

En ninguna de las muestras analizadas fue posible detectar tilosina. Todas las muestras de plasma de todos los animales presentaron niveles de tilosina por debajo del límite de detección de la técnica analítica (0.0026 µg/mL).

La figura 11 representa las curvas tiempo-concentración plasmáticas medias de oxitetraciclina en cerdos enfermos tras 9 días de administración de pienso medicado con oxitetraciclina, tilosina, colistina y óxido de zinc *ad libitum*.



**Figura 11: Concentraciones plasmáticas de oxitetraciclina en animales enfermos tras 9 días de tratamiento con pienso medicamentoso *ad libitum***

Todos los animales presentaron concentraciones cuantificables en todos los puntos de muestreo, las cuales oscilaron entre 0.01 y 0.51  $\mu\text{g/mL}$ . Las concentraciones plasmáticas individuales de clortetraciclina se describen en el Apéndice 3.

#### 4.4.4 Parámetros farmacocinéticos

La tabla 35 representa los parámetros farmacocinéticos de oxitetraciclina en animales enfermos.

Tabla 35: Parámetros farmacocinéticos de oxitetraciclina obtenidos en animales enfermos

Duración del tratamiento	Dosis de OTC (mg/kg pv)	Parámetro							
		$AUC_{0-t}$ ( $\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$ )		$C_{\text{max}}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )		$C_{\text{min}}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )		MRT (h)	
		Media	D.E.	Media	D.E.	Media	D.E.	Media	D.E.
9 días	12.8 $\pm$ 1.6	6.9	2.76	0.36	0.12	0.18	0.12	11.40	1.07

## 4.5 Análisis PK/PD

### 4.5.1 Determinación de los índices PK/PD

En las tablas 36 y 37 se presentan los índices PK/PD para clortetraciclina y oxitetraciclina calculados en los grupos de animales sanos y en los tres grupos de animales enfermos calculados a partir de los valores de MIC descritos en la tabla 8 del apartado 1.5.6.

Para los cálculos se tuvieron en cuenta los valores de  $MIC_{90}$ , ya que se considera que, para asegurar la eficacia de antimicrobianos bacteriostáticos, los regímenes de dosificación deben mantener las concentraciones por encima de este valor de MIC (Aliabadi y Lees, 2000).

Tabla 36: Índices PK/PD para clortetraciclina correspondientes a diferentes microorganismos

Grupo/Dosis CTC (mg/kg)	Índice PK/PD	Microorganismo							
		<i>L. intracellularis</i> (MIC=64 µg/mL) Europa/EEUU	<i>M. hyopneumoniae</i> (MIC=8 µg/mL) Bélgica	<i>P. multocida</i> (MIC=4 µg/mL) EEUU	<i>H. parasuis</i> (MIC=4 µg/mL) EEUU	<i>B. bronchiseptica</i> (MIC=0.5 µg/mL) EEUU	<i>A. pleuropneumoniae</i> (MIC=16 µg/mL) EEUU	<i>E. coli</i> (MIC=>32 µg/mL) EEUU	<i>S. suis</i> (MIC=>32 µg/mL) EEUU
S (CTC)/11.6	AUC <sub>24hs</sub> /MIC	0.16 ± 0.03	1.26 ± 0.21	2.52 ± 0.41	2.52 ± 0.41	20.19 ± 3.32	0.63 ± 0.10	0.32 ± 0.05	0.32 ± 0.05
	C <sub>maxss</sub> /MIC	0.007 ± 0.001	0.053 ± 0.007	0.107 ± 0.014	0.107 ± 0.014	0.852 ± 0.118	0.027 ± 0.004	0.013 ± 0.002	0.013 ± 0.002
	T <sub>&gt;MIC</sub> (%)	0	0	0	0	15.6	0	0	0
S (CTC + TLS)/12.5	AUC <sub>24hs</sub> /MIC	0.18 ± 0.028	1.41 ± 0.23	2.81 ± 0.45	2.81 ± 0.45	22.51 ± 3.64	0.70 ± 0.11	0.35 ± 0.06	0.35 ± 0.06
	C <sub>maxss</sub> /MIC	0.008 ± 0.002	0.062 ± 0.013	0.125 ± 0.026	0.125 ± 0.026	0.999 ± 0.206	0.031 ± 0.006	0.002 ± 0.003	0.002 ± 0.003
	T <sub>&gt;MIC</sub> (%)	0	0	0	0	24.9	0	0	0
S (CTC + TLS + C)/13.1	AUC <sub>24hs</sub> /MIC	0.18 ± 0.03	1.42 ± 0.21	2.83 ± 0.42	2.83 ± 0.42	22.65 ± 3.63	0.71 ± 0.11	0.35 ± 0.05	0.35 ± 0.05
	C <sub>maxss</sub> /MIC	0.008 ± 0.001	0.062 ± 0.011	0.125 ± 0.023	0.125 ± 0.023	0.998 ± 0.181	0.031 ± 0.006	0.016 ± 0.003	0.016 ± 0.003
	T <sub>&gt;MIC</sub> (%)	0	0	0	0	32.9	0	0	0
E (CTC + TLS + C)152	AUC <sub>24hs</sub> /MIC	0.13 ± 0.07	1.05 ± 0.52	2.11 ± 1.03	2.11 ± 1.03	16.85 ± 8.26	0.53 ± 0.26	0.26 ± 0.13	0.26 ± 0.13
	C <sub>maxss</sub> /MIC	0.007 ± 0.003	0.056 ± 0.03	0.112 ± 0.051	0.112 ± 0.051	0.899 ± 0.406	0.028 ± 0.013	0.014 ± 0.006	0.014 ± 0.006
	T <sub>&gt;MIC</sub> (%)	0	0	0	0	19.4	0	0	0
E (CTC + LCM)/16.4	AUC <sub>24hs</sub> /MIC	0.11 ± 0.05	0.87 ± 0.43	1.73 ± 0.85	1.73 ± 0.85	13.86 ± 6.82	0.43 ± 0.21	0.21 ± 0.11	0.21 ± 0.11
	C <sub>maxss</sub> /MIC	0.005 ± 0.002	0.04 ± 0.02	0.085 ± 0.034	0.085 ± 0.034	0.683 ± 0.273	0.021 ± 0.009	0.011 ± 0.004	0.011 ± 0.004
	T <sub>&gt;MIC</sub> (%)	0	0	0	0	11.3	0	0	0

Tabla 37: Índices PK/PD para oxitetraciclina correspondientes a diferentes microorganismos

Grupo/Dosis OTC (mg/kg)	Índice PK/PD	Microorganismo				
		<i>M. hyopneumoniae</i> (MIC=0.4 µg/mL) España	<i>P. multocida</i> (MIC=8 µg/mL) España	<i>H. parasuis</i> (MIC=8 µg/mL) España	<i>B. bronchiseptica</i> (MIC=0.6 µg/mL) España	<i>A. pleuropneumoniae</i> (MIC=32 µg/mL) Francia
E (OTC + TLS + C)/12.8	AUC <sub>24hs</sub> /MIC	17.25 ± 6.90	0.86 ± 0.35	0.86 ± 0.35	11.50 ± 4.60	0.22 ± 0.09
	C <sub>max</sub> /MIC	0.907 ± 0.302	0.045 ± 0.015	0.045 ± 0.015	0.605 ± 0.201	0.011 ± 0.004
	T <sub>&gt;MIC</sub> (%)	22.3	0	0	0	0

---

La mayoría de las MIC<sub>90</sub> encontradas en la bibliografía para cada patógeno fueron muy elevadas por lo que los valores de los índices PK/PD determinados para cada uno de ellos fueron extremadamente bajos, tanto para los grupos de animales sanos como en los enfermos. Únicamente los valores medios de AUC/MIC para clortetraciclina frente a *B. bronchiseptica* oscilaron entre 20.19 y 22.65 en animales sanos y 13.80 y 16.85 en animales enfermos, mientras que para la oxitetraciclina administrada a animales enfermos este índice fue de 17.25 frente a *M. hyopneumoniae*. Además, sólo en el caso de *B. bronchiseptica* para la clortetraciclina y *M. hyopneumoniae* para la oxitetraciclina, las concentraciones plasmáticas estuvieron, para algunos animales, por encima de la MIC de ambos patógenos (0.5 µg/mL y 0.4 µg/mL, respectivamente), aunque el valor medio de este índice (T>MIC) no fue muy elevado (entre 15.6-32.9% en animales sanos y 11.3-22.3% en animales enfermos).

**Tabla 38: Valores individuales de AUC/MIC y T>MIC para clortetraciclina y oxitetraciclina frente a *B. bronchiseptica* y *M. hyopneumoniae*, respectivamente, en animales sanos y enfermos**

Grupo /Dosis CTC (mg/kg)	Animal	AUC <sub>24h</sub> /MIC <sub>90</sub> ( <i>B. bronchiseptica</i> )	T>MIC ( <i>B. bronchiseptica</i> )
S (CTC)/11.6	11	16.92	0
	12	14.66	0
	13	19.77	0
	14	22.29	0
	15	22.99	24.71
	16	26.58	100.00
	17	18.40	0
	18	20.95	31.24
	19	19.41	0
	20	19.90	0
S (CTC + TLS)/12.5	21	22.05	0
	22	19.03	0
	23	23.13	34.94
	24	31.33	92.38
	25	18.02	0
	26	24.57	58.63
	27	22.86	25.55
	28	21.00	38.17
	29	21.54	0
	30	21.56	0
S (CTC + TLS + C)/13.1	31	23.67	42.90
	32	19.20	0
	33	19.26	0
	34	25.92	57.50
	35	22.98	43.45
	36	27.80	94.85
	37	23.29	16.21
	38	26.27	73.98
	39	18.55	0
	40	19.54	0
E (CTC + TLS + C)/15.2	1	25.75	78.43
	2	11.63	0
	3	12.03	0
	4	21.78	53.80
	5	15.14	0
	6	4.85	0
	7	36.14	100.00
	8	9.06	0
	9	17.16	36.64
	10	18.74	0
	11	15.23	0
	12	3.86	0
	13	3.65	0
	14	11.59	0
	15	6.93	0
	16	14.53	0
	17	12.90	0
	18	6.04	0
	19	17.01	0
	20	9.95	0
	21	24.72	34.92
	22	31.12	100.00
	23	14.90	0
	24	12.89	0
	25	16.74	0
26	20.93	20.71	
27	16.39	0	
28	20.51	0	
29	20.23	0	
30	29.76	100.00	
31	16.80	0	
32	11.84	0	
33	20.80	36.25	
34	24.22	64.46	
35	18.15	0	
36	10.02	0	
37	21.36	8.37	
38	13.08	0	
39	21.25	9.45	
40	25.17	65.26	
41	39.38	99.26	
42	15.62	17.85	
43	10.43	0	
44	2.09	0	
45	25.88	45.29	
E (CTC + LCM)/16.4	1	16.49	0
	2	10.85	0
	3	7.05	0
	4	13.65	0
	5	3.91	0
	6	9.39	0
	7	27.63	100.00
	8	19.20	0
	9	23.42	36.00
	10	12.13	0
	11	12.92	0
	12	9.70	0

Grupo /Dosis OTC (mg/kg)	Animal	AUC <sub>24h</sub> /MIC <sub>90</sub> ( <i>M. hyopneumoniae</i> )	T>MIC ( <i>M. hyopneumoniae</i> )
E (OTC + TLS + C)/12.8	1	27.13	89.86
	2	13.70	0
	3	13.96	0
	4	27.99	83.47
	5	13.28	0
	6	19.36	22.49
	7	24.76	72.03
	8	14.30	0
	9	5.00	0
	10	10.72	0
	11	20.16	0
	12	16.65	0

## 5 DISCUSIÓN

### 5.1 Piensos medicamentosos

Controlar las resistencias antimicrobianas y sus efectos sobre la salud pública requiere conocer los patrones de consumo real de los antimicrobianos en animales para consumo. Estos datos pueden ser efectivos para detectar un uso inapropiado, para identificar factores de riesgo subyacentes o para cuantificar la presión de selección ejercida por el antimicrobiano (Timmerman et al., 2006), la cual dependerá en gran parte de la dosis, el intervalo y la duración de los tratamientos (Catry et al., 2003).

Uno de los objetivos del presente trabajo de tesis fue analizar el uso real de antimicrobianos centrándonos en su administración vía pienso al ser la más utilizada en porcino (Rajić et al., 2006; Stevens et al., 2007; Merle et al., 2012; Moreno, 2014). En el Reino Unido, por ejemplo, esta vía representó un 62% del total de ventas de principio activo en 2012 (Veterinary Medicines Directorate, 2013).

Como punto de partida cabe señalar que las encuestas se han llevado a cabo en empresas productoras de piensos medicamentosos que voluntariamente han contestado los formularios, por lo tanto no han sido escogidas al azar y los datos no permiten un análisis estadístico. Además, las encuestas se han centrado en las fases de producción donde los tratamientos con antimicrobianos en pienso son rutinarios (es decir, están incluidos en los programas de alimentación de las granjas) y para las que se han obtenido cifras de fabricación anuales. Sin embargo, dado el peso de estas empresas en el sector, representando un 27.5% del total de piensos medicamentosos utilizados en lechones en Catalunya (Generalitat de Catalunya, 2013) los datos obtenidos proporcionan una visión real del uso de los diferentes antimicrobianos que puede considerarse generalizada.

En Catalunya, el total de piensos medicamentosos producidos en el 2012 fue de 749.203 toneladas, de los cuales un 40% fueron piensos de primeras edades. De hecho, es en estas etapas (hasta 9-10 semanas de vida o hasta 20-25 kg de peso) cuando el consumo de pienso medicamentoso es mayoritario, representando el 75% de los piensos de iniciación y el 73% de los piensos de transición producidos.



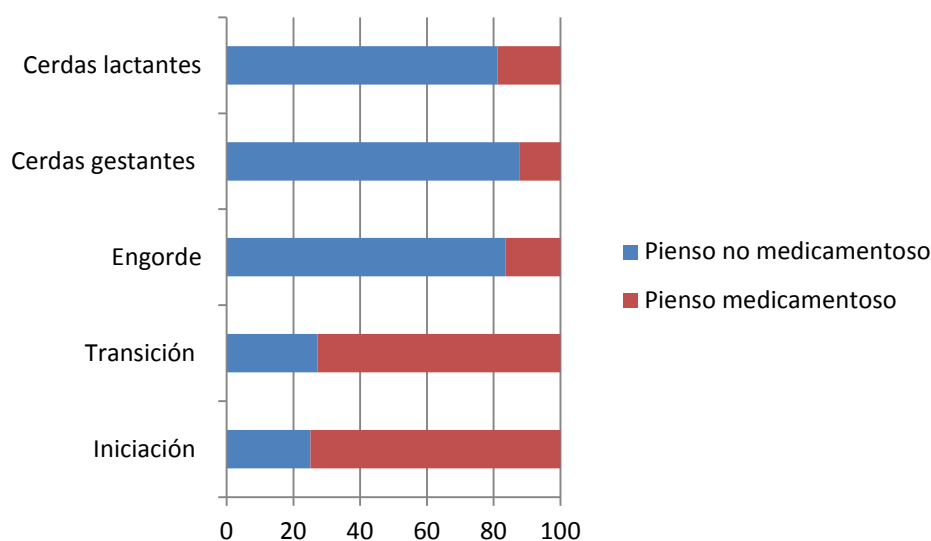


Figura 12: Porcentaje de pienso medicamentoso<sup>j</sup> con respecto al total de pienso<sup>k</sup> producido en Catalunya en el 2011

En el presente trabajo todas las empresas encuestadas, las cuales representan un 27.5% de la producción anual total de pienso medicamentoso, utilizaban antimicrobianos y/o óxido de zinc en los piensos de iniciación y transición que fabricaban. Estos resultados están en consonancia con los encontrados en el estudio de Rajić et al. (2006) donde el 100% de las granjas encuestadas en Alberta (Canadá) durante el año 2000 afirmaron administrar antimicrobianos vía pienso en lechones de estas edades, aunque en este estudio no se consideró el tipo de uso (terapéutico o como promotor de crecimiento). Este porcentaje fue algo menor (entre el 60 y el 75%, dependiendo del tipo de granja) en Gran Bretaña según datos obtenidos a través de encuestas a 482 granjas (Stevens et al., 2007). Este patrón de uso profiláctico, es decir, la utilización de antimicrobianos de manera habitual en las granjas para el tratamiento de cerdos sanos con el fin de prevenir enfermedades (Aarestrup, 2005), está relacionado con situaciones que pueden provocar estrés, como la castración o el destete (Callens et al., 2012) o la mezcla de animales durante la transición (Schwarz et al., 2001) lo cual puede conllevar una mayor vulnerabilidad a enfermedades infecciosas (Dunlop et al., 1998; Moreno, 2014).

<sup>j</sup> Generalitat de Catalunya, 2013

<sup>k</sup> Generalitat de Catalunya, 2012a

Por otro lado, el uso de antimicrobianos de manera profiláctica durante la fase cebo (20-25 kg de peso hasta matadero) está concentrado en las primeras semanas del engorde. Por ejemplo, Dunlop et al. (1998) observaron que la mayoría de la exposición a antimicrobianos ocurría entre el destete y los 45 kg de peso. Mediante las encuestas se constató que el 100% de las empresas utilizaban antibióticos y/o óxido de zinc en los piensos de entrada a cebo (durante aproximadamente los primeros 15 días), ya que es también una etapa crítica para la salud de los animales debido a las posibles mezclas de animales de diferentes orígenes, cambios de instalaciones, y, en granjas de engorde además, rotaciones de animales (Casal et al., 2007). La producción de este tipo de pienso por las empresas encuestadas supuso un 17.2% del total del pienso medicamentoso de engorde producido en Catalunya (Generalitat de Catalunya, 2013).

Las cantidades anuales de piensos medicamentosos con antimicrobianos para cerdas gestantes fabricadas por las empresas encuestadas suponen un 9% del total de piensos medicamentosos para estos animales en Catalunya. Sólo una de las seis empresas encuestadas no usaba antimicrobianos en pienso en esta etapa, aunque sí administraba un producto antiparasitario (oxibendazol). Las otras cinco los administraban 15 días en cada gestación como tratamiento llamado “de blanqueo” y dos de ellas los administraban junto con el tratamiento antiparasitario (flubendazol u oxibendazol). En el 88% de los piensos administrados a cerdas gestantes en Catalunya en el 2011 no se utilizaron premezclas medicamentosas, lo cual demuestra que el uso profiláctico de antimicrobianos en estos animales es muy limitado.

El modelo de producción porcina en Catalunya está basado mayoritariamente en la integración, donde la empresa integradora (algunas de ellas también fabricantes de pienso) proporciona el ganado, el pienso, el servicio veterinario mientras que el integrado aporta las instalaciones y el cuidado y mantenimiento de los animales. Este régimen representaba el 73.4% de las granjas de cebo en Catalunya en el 2010 (Generalitat de Catalunya, 2012a), siendo éste un porcentaje muy superior al de otras regiones productoras mundiales (Soldevila Lafon y Viladomiu, 2013).

El sistema de integración y especialmente el hecho diferencial de que la empresa suministradora del pienso sea la propietaria de los animales, pueden ser motivo para que la

producción de pienso medicamentoso en España, particularmente en Catalunya donde el 57.6% de los piensos van destinados al sector porcino (Soldevila Lafon, 2008), sea muy superior a otros países europeos y que ésta sea la vía de administración de antimicrobianos más utilizada (FCEC, 2010). Además, el hecho de que España sea uno de los países con más premezclas medicamentosas autorizadas en 2009 después de Francia y Portugal (FCEC, 2010), de las cuales el 82% correspondía a antimicrobianos y óxido de zinc utilizados para uso en porcino (datos extraídos de la lista de *premezclas medicamentosas con autorización vigente para 2009*, AEMPS, 2008), corrobora la importancia del uso en esta vía.

En este contexto, las empresas integradoras pueden diseñar programas de alimentación y de control de enfermedades según la etapa productiva del animal y estandarizar los tratamientos profilácticos con premezclas medicamentosas en sus granjas integradas, lo cual permite el tratamiento de un número elevado de animales a la vez que se reducen los costes de producción de los piensos medicamentosos. Además, su aplicación es sencilla y no requiere excesiva mano de obra ni demasiado cualificada en la granja.

Existen otros argumentos a favor del uso de antimicrobianos en piensos relacionados con la salud pública, como el hecho de que menos personal está expuesto a posibles riesgos por la manipulación de medicamentos veterinarios (irritación por contacto, inhalación de polvo) en comparación con las medicaciones en granja. Además, es más fácil garantizar la correcta dosificación, homogeneidad y estabilidad de los medicamentos a la vez que existe un menor riesgo de contaminaciones cruzadas en las fábricas de pienso, las cuales están sometidas a controles e inspecciones periódicas según el Reglamento (CE) No 183/ 2005.

Sin embargo, el uso mayoritariamente profiláctico de esta vía de administración (Callens et al., 2012; Casal et al., 2007) es lo que, a pesar de las ventajas mencionadas, puede suponer un potencial riesgo para la salud pública ya que el uso continuado de antimicrobianos contribuye a la aparición de bacterias resistentes a antimicrobianos capaces de transmitir esta resistencia a bacterias patógenas tanto en animales como en humanos (Thacker, 2013).

## 5.2 Uso de antimicrobianos como premezclas medicamentosas

A partir de los datos aportados por las empresas encuestadas se identificaron 11 antimicrobianos pertenecientes a ocho clases diferentes utilizados como premezclas medicamentosas en los piensos administrados a los animales en las diferentes fases:  $\beta$ -lactámicos (amoxicilina, fenoximetilpenicilina), polimixinas (colistina), tetraciclinas (oxitetraciclina, clortetraciclina y doxiciclina), lincosamidas (lincomicina), aminoglicósidos (espectinomicina), pleuromutilinas (tiamulina), macrólidos (tilosina), sulfonamidas (sulfadiazina y trimetoprim) y óxido de zinc.

De éstos, tres clases,  $\beta$ -lactámicos (amoxicilina, fenoximetilpenicilina), polimixinas (colistina) y macrólidos (tilosina) están clasificados como antimicrobianos de importancia crítica (CIA en sus siglas en inglés) por la Organización Mundial de la Salud, los cuales se definen como la única alternativa para tratar enfermedades graves, causadas por organismos transmitidos a humanos o causadas por organismos que pueden adquirir resistencias a través de fuentes no humanas (World Health Organization, 2012). El resto de antimicrobianos usados están clasificados de importancia elevada. El uso de CIA está relacionado con la aparición de bacterias multiresistentes, como las enterobacterias portadoras de  $\beta$ -lactamasas de amplio espectro (ESBL en sus siglas en inglés) que inactivan a los antimicrobianos  $\beta$ -lactámicos. Este fenómeno parece más relevante en países de sur de Europa (ECDC, 2013) como España, donde Mesa et al. (2006) encontraron 39 cepas de *E. coli* portadoras de ESBL en ocho granjas de cerdos, similares a las encontradas en humanos, alimentos o aguas residuales, lo cual sugiere la importancia de los productos de origen animal como vehículo de diseminación de bacterias resistentes. Estas diferencias entre países son debidas a que el nivel de resistencia está estrechamente correlacionado con el nivel de uso de los antimicrobianos. Así, Chantziaras et al. (2014) encontraron que en países con un elevado uso de algunos antimicrobianos como Bélgica, los niveles de resistencias a estos antimicrobianos eran también elevados mientras que en Noruega y Suecia se daba la situación contraria.

Esto pone de manifiesto que los hábitos de uso de los antimicrobianos por parte los veterinarios, ganaderos y/o fábricas de pienso y las diferentes políticas nacionales de control de este uso tienen influencia directa sobre la aparición de resistencias, así, y

siguiendo con el ejemplo anterior, en Bélgica (pero también en España) aún no se han puesto en práctica las recomendaciones para el uso prudente de antimicrobianos mientras que Suecia es pionero en promover el uso prudente de antimicrobianos y en prohibir su uso profiláctico (Callens et al., 2012).

En el presente estudio la amoxicilina se utilizó en la mayoría de piensos medicamentosos administrados hasta los 70 días de vida (80% en predestete, 100% en prestarter y 90% en starter de los animales expuestos) mientras que la administración de colistina se alargó hasta la entrada a engorde en la mayoría de animales (100% en predestete y prestarter, 45% en starter y 94% en entrada a engorde).

Estos resultados son similares a los obtenidos por Moreno (2014), donde, a partir de encuestas a granjas de ciclo cerrado en España, constató que  $\beta$ -lactámicos y polimixinas fueron los más utilizados durante las fases de predestete y crecimiento, lo cual confirma que el uso de algunos CIAs es rutinario y que los tratamientos con antimicrobianos en las etapas más tempranas del engorde están muy estandarizados. Así mismo, en el presente estudio, más de la mitad de los animales fueron tratados con fenoximetilpenicilina durante la entrada a engorde. De hecho, en España, las penicilinas representan el 31% de las prescripciones de antimicrobianos en porcino (De Briyne et al., 2014).

La exposición a tilosina fue mucho menor y sólo en el pienso starter y en la entrada a engorde (6% en los dos casos), lo cual parece contrastar con resultados de otros estudios como el de Apley et al. (2012), donde el uso de macrólidos (tilmicosina y tilosina) en pienso en granjas de Estados Unidos fue mayoritario tanto en la etapa de crecimiento como en la etapa de engorde, aunque si tenemos únicamente en cuenta el uso preventivo (como es el caso del presente estudio), tilmicosina y tilosina representan un 10 y un 9% respectivamente de los kg totales utilizados. Rajić et al. (2006) reportaron un uso importante en pienso de tilosina (46.6% de las granjas) al inicio del engorde en Canadá, sin embargo, no distingue entre el uso terapéutico o profiláctico. En este mismo estudio también se reportó un uso considerable de lincomicina (34.1%) en esta etapa. En el presente trabajo se constató que el 60% de los animales fue administrado con pienso medicamentoso que contenía lincomicina en la fase de pienso prestarter. Ambas clases de antimicrobianos actúan inhibiendo la síntesis proteica de las bacterias uniéndose a la

subunidad 50S del ribosoma. Debido a este mecanismo de acción similar, los mecanismos de resistencia a estos antimicrobianos son también parecidos (Pyörälä et al., 2014).

Existe una creciente preocupación en Europa por los altos niveles de resistencia de algunos patógenos como *Brachyspira hyodysenteriae* a lincosamidas y macrólidos, especialmente tilosina, encontrados en varios países europeos. Esta bacteria produce disentería porcina, la mayor causa de diarreas en cerdos a cualquier edad (Carvajal et al., 2006). En España, donde tilosina, lincomicina, y tiamulina se han utilizado durante más de 20 años para su control y prevención, Hidalgo et al. (2009) confirmaron un incremento de resistencia de *B. hyodysenteriae* a estos antimicrobianos además de una disminución de la susceptibilidad antimicrobiana, a lo cual parecen contribuir las medicaciones en pienso y los productos inyectables de acción prolongada que resultan en bajas concentraciones del principio activo durante períodos prolongados de tiempo (Pyörälä et al., 2014).

La constatación de la falta de efectividad de la tilosina frente a *B. hyodysenteriae* llevó a la Agencia Europea del Medicamento (EMA), a través del CVMP a redactar un documento de reflexión sobre el uso de macrólidos, lincosamidas y estreptograminas en los animales de consumo (European Medicines Agency, 2011a) que ha llevado finalmente en 2014 a la modificación de los RCP (resumen de características) de productos a base de tilosina, donde se elimina la indicación de la disentería porcina y se establece la máxima duración de los tratamiento en tres semanas a la máxima dosis recomendada (Unión Europea, 2014a).

El uso de tetraciclinas por las empresas encuestadas también fue importante y en consonancia con datos obtenidos en otros estudios. Un 66% de los animales fue tratado con pienso starter medicamentoso a base de clortetraciclina, mientras que en entrada a engorde la suma de tetraciclinas (clortetraciclina, oxitetraciclina y doxiciclina) fue de un 41%. Moreno (2014) también reportó un uso considerable (41% en fase de crecimiento y 47% en fase de engorde de granjas expuestas), aunque en su caso la vía de administración en agua fue más frecuente que la del pienso (27% vs. 18% de granjas en crecimiento y 43% vs. 16% en engorde). En el estudio de Jensen et al. (2011), donde se estudiaban los patrones de uso de antimicrobianos en Dinamarca, encontraron que el uso de tetraciclinas estaba muy extendido tanto en engorde como en la fase de crecimiento. En esta fase, además, se

constató un aumento en el uso de tetraciclinas del 20% al 39% desde el año 2002 al 2008, el cual se explicó en parte por las directrices de la agencia danesa (Danish Veterinary and Food Administration) de priorizar el uso de tetraciclinas frente a macrólidos en el tratamiento de ileítis causada por *L. intracellularis* y en parte por la diferencia de precio entre ambas clases de antimicrobianos. Esto vuelve a poner de manifiesto que el uso y por tanto la aparición de resistencias está altamente influenciado por las políticas de uso y control adoptadas a nivel nacional.

Los tratamientos masivos en granja con tetraciclinas (es decir, vía pienso o agua) se han relacionado con la aparición de resistencias en bacterias patógenas como *Actinobacillus pleuropneumoniae* causante de pleuroneumonía en cerdos y zoonóticas como *Streptococcus suis*, causante de endocarditis, meningitis y septicemia en cerdos y en humanos o *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (MRSA en sus siglas en inglés), responsable de infecciones hospitalarias. En España, Gutiérrez-Martín et al. (2006) y Vela et al. (2005) encontraron que el 73.8% y el 87% de los aislados en granjas de cerdos de *A. pleuropneumoniae* y *S. suis* respectivamente eran resistentes a tetraciclinas. Del mismo modo, Duijkeren et al. (2008) reportaron que todas las cepas de MRSA aisladas en diferentes tipos de granjas porcinas en Holanda fueron resistentes a estos antimicrobianos.

Todos los animales fueron tratados con pienso medicamentoso que incluía óxido de zinc durante la lactación y el pienso prestarter, y un 78% fueron tratados también durante la fase de pienso starter. Moreno (2014) encontró un uso también mayoritario en estas etapas pero los porcentajes de granjas expuestas fueron algo menores (57% en lactación y un 73% en crecimiento). El uso de óxido de zinc en el pienso puede contribuir al aumento y diseminación de resistencias bacterianas en cerdos mediados por mecanismos de co-resistencia (Moodley et al., 2011) como en el caso de MRSA (Cavaco et al., 2011). Aarestrup et al. (2010) encontraron que el 74% de los aislados de MRSA CC398 tenían una susceptibilidad reducida al cloruro de Zinc, mientras que las cepas de *S. aureus* que eran sensibles a meticilina también lo eran al Zinc. De manera similar, Medardus et al. (2014) encontraron una estrecha asociación entre la disminución de la susceptibilidad al cobre y al zinc y el incremento de la resistencia antimicrobiana de diferentes cepas de *Salmonella*.

### 5.2.1 Combinaciones de antimicrobianos

En 6 de las 17 combinaciones reportadas en las encuestas tanto en lechones como en cerdas gestantes se utilizaron dos antimicrobianos, en otras seis se utilizaron tres antimicrobianos y en una de ellas se utilizaron cuatro antimicrobianos diferentes. El resto de casos fueron asociaciones de un antimicrobiano con óxido de zinc o únicamente un antimicrobiano.

En el 92% de los piensos de lechones hasta entrada a engorde se combinaron dos o más antimicrobianos y óxido de zinc, el cual se utilizó en todos los piensos lactoiniciadores y prestarters. En starters, sólo se utilizó en dos combinaciones de las cinco combinaciones de antimicrobianos que se reportaron (34% de animales expuestos).

La combinación amoxicilina, colistina y óxido de zinc fue la más utilizada en lactoiniciadores y en prestarters (92 y 100% de animales expuestos respectivamente), de manera similar a lo reportado por Moreno (2014). Es utilizada para el control de artritis, meningitis y diarrea postdestete, debido al amplio espectro de acción y la buena absorción de la amoxicilina, el efecto de la colistina sobre bacterias Gram negativo en el intestino, dada su nula absorción, (Timmerman et al., 2006) y el efecto del óxido de zinc sobre la estabilidad de la microflora intestinal y sobre la reducción de diarreas causadas por *E. coli* (Martini Pulz, 2006).

A partir del pienso starter, los tratamientos fueron mucho más diversos, con cinco combinaciones diferentes para cada tipo de pienso, siendo la combinación de clortetraciclina, amoxicilina y lincomicina la más frecuente en el pienso starter y la combinación fenoximetilpenicilina y colistina en el pienso de entrada a engorde (50% y 54% de los animales expuestos, respectivamente). Rajić et al. (2006) también reportaron el uso de hasta seis antimicrobianos en piensos para animales de edades similares a los del presente estudio, siendo los que contenían tres antimicrobianos las mayoritarias (52.6% de las granjas en Canadá) para animales en fase de pienso starter y combinaciones de dos antimicrobianos al inicio del engorde. En este caso, la combinación más utilizada en starter fue clortetraciclina, sulfametazina y penicilina. Cabe señalar que esta combinación está aprobada en Canadá como una única premezcla medicamentosa, mientras que las combinaciones reportadas en el presente trabajo son en base a premezclas medicamentosas



de un único antimicrobiano o como máximo de dos, cuyas sinergias son descritas en las fichas técnicas de los productos (p.ej. lincomicina/espectinomicina o sulfadiazina/trimetoprim).

Es importante destacar, por tanto, que los antimicrobianos utilizados en la mayoría de las combinaciones presentan diferentes relaciones de interacción entre sí. La colistina tiene un comportamiento sinérgico con diferentes antimicrobianos, es decir, el efecto combinado es mayor que la suma de los efectos de cada uno de ellos (Cottarel y Wierzbowski, 2007). Así, Ma et al. (2009) demostraron este efecto sinérgico de la combinación de colistina y amoxicilina (78.6% más efectiva) *in vitro* frente a 14 cepas de bacterias patógenas en cerdo y pollos.

Este efecto sinérgico se produciría, en el caso de antimicrobianos hidrofóbicos como las tetraciclinas o los macrólidos, porque las polimixinas provocan una disrupción sobre la membrana de las bacterias gram-negativas haciéndola más permeable, y por tanto más susceptible, a estos antimicrobianos (Landman et al., 2008).

La sinergia de la colistina con otros antimicrobianos ( $\beta$ -lactámicos, eritromicina, tetraciclinas, sulfamidas, trimetoprim y bacitracina) se describe en la mayoría, aunque no en todas, las fichas técnicas de las premezclas medicamentosas a base de colistina autorizadas en España.

Del mismo modo, en la mayoría de las fichas técnicas de las premezclas a base de amoxicilina se recomienda no administrarla junto con antimicrobianos bacteriostáticos como macrólidos, sulfamidas y tetraciclinas, y sin embargo, en el 58% de las combinaciones con amoxicilina se utilizó al menos otro antimicrobiano con efecto antagónico a la amoxicilina. De hecho, en el 42% de los casos, las combinaciones utilizadas por las empresas encuestadas contienen al menos un antimicrobiano con efecto antagónico al resto. Así por ejemplo, en la combinación más utilizada en starter (clortetraciclina, amoxicilina y lincomicina), dado que la amoxicilina (bactericida) actúa únicamente sobre bacterias en multiplicación activa, la lincomicina y la clortetraciclina, que actúan inhibiendo la síntesis proteica, disminuirían la eficacia de la amoxicilina al disminuir la actividad de las células bacterianas (USP, 2003).

Por regla general, las interacciones se estudian *in vitro* en base a concentraciones estáticas de los antimicrobianos. Por ello, no siempre los posibles efectos positivos de estas interacciones se observan *in vivo*, dado que las concentraciones en el organismo fluctúan en función de los diferentes regímenes de dosificación y de las tasas de absorción y eliminación (Cottarel y Wierzbowski, 2007).

En veterinaria existen pocos estudios clínicos que demuestren el beneficio terapéutico de una combinación con respecto al uso de un único antimicrobiano, a excepción por ejemplo de las combinaciones de sulfamida y trimetoprim, aunque sí existe una recomendación generalizada de evitar, al menos, los antagonismos demostrados *in vitro* (Anadón, 2007).

Sin embargo, el uso de combinaciones (aditivas o sinérgicas) en la práctica clínica se suele justificar por el aumento del espectro de actividad, de la eficacia terapéutica y en algunos casos para disminuir la aparición de resistencias. Además, se suele afirmar que las combinaciones sinérgicas tienen el potencial de ralentizar la aparición de resistencias al considerar que los mecanismos de resistencias son independientes y que las posibilidades de las bacterias de ser resistentes a varios antimicrobianos a la vez son extremadamente pequeñas (Mouton, 1999).

A pesar de todo ello, recientes estudios han demostrado que algunas combinaciones sinérgicas pueden favorecer la aparición de resistencias, mientras que algunas combinaciones antagonistas las pueden debilitar (Michel et al., 2008; Hegreness et al., 2008).

La actual normativa sobre piensos medicamentosos especifica que, con carácter general, solo se elaborarán piensos medicamentosos a partir de una sola premezcla medicamentosa, aunque contempla el uso de más de una (previa prescripción y bajo responsabilidad del veterinario prescriptor), siempre que se utilicen bajo las condiciones establecidas en el resumen de características del producto. También contempla un uso distinto, previa prescripción excepcional y bajo la responsabilidad del veterinario prescriptor, pero condicionado a que no existan interacciones que puedan modificar los tiempos de espera establecidos (España, 2009).

Sin embargo, en el presente trabajo de tesis se ha podido constatar que el uso de varias premezclas medicamentosas de antimicrobianos en un mismo pienso es una situación habitual en la práctica, alguna de ellas incluso incompatible según los RCP de los productos comerciales, lo cual, no sólo contribuiría a la aparición de resistencias, como se ha mencionado antes, sino que el tiempo de espera especificado en el RCP de cada medicamento podría verse afectado por cualquier interacción que afecte a la farmacocinética de los antimicrobianos utilizados.

### **5.2.2 Dosificación y duración de los tratamientos**

En el presente trabajo se han comparado las dosificaciones de los antimicrobianos utilizados por las empresas encuestadas con las dosificaciones especificadas en los RCP de las premezclas medicamentosas autorizadas en España. En estas fichas técnicas, se considera la dosis expresada en mg/kg de peso vivo y se considera que un animal ingiere, de pienso, el equivalente a 4-5% de su peso al día. Teniendo en cuenta la cantidad de principio activo en el medicamento, se puede calcular la tasa de inclusión en pienso (mg de principio activo/kg de pienso). En general, la tasa de inclusión en pienso para cada uno de los antimicrobianos y óxido de zinc estaba dentro del rango encontrado en los RCP, aunque en algunos piensos de lechones para la amoxicilina fue algo menor (225-250 mg/kg vs. 300-450 mg/kg pienso), mientras que fue mayor para la clortetraciclina (500-600 mg/kg vs. 100-400 mg/kg pienso) en dos piensos diferentes, para la tilosina (150 mg/kg vs. 80-100 mg/kg pienso) y para la fenoximetilpenicilina (300 mg/kg vs. 200 mg/kg pienso). En los piensos de cerdas gestantes, la amoxicilina fue administrada a menor concentración en uno de ellos (250 mg/kg) mientras que la clortetraciclina y la oxitetraciclina lo fueron a una mayor concentración (500 mg/kg vs. 100-400 mg/kg pienso y 900 mg/kg vs. 55-750 mg/kg pienso, respectivamente).

La tasa de inclusión en pienso de los medicamentos veterinarios descritas en los RCP está basada idealmente en cerdos de 20 kg que consumen el equivalente al 4-5% de su peso al día, aunque en la mayoría también se recomienda ajustar la concentración del antimicrobiano en función de la ingesta real de pienso. Un ejemplo de ello sería el tratamiento de infecciones uterinas en cerdas gestantes con tetraciclinas, teniendo en cuenta que estos animales ingieren el equivalente a un 1% de su peso, se requerirían aumentar la inclusión en cinco veces (Burch, 2012), lo cual parece que concuerda con los

datos obtenidos de las encuestas en el presente trabajo. Sin embargo, en la práctica es difícil asegurar una correcta dosificación de los antimicrobianos administrados en pienso ya que la mayoría de ellos se utilizan para animales de diferentes edades, pesos y status sanitario, por lo que situaciones, por lo general, de subdosificación, son comunes (Timmerman et al., 2006; Callens et al., 2012; Trauffler et al., 2014).

Otro dato relevante que se puede extraer de los resultados obtenidos es el de la duración de la exposición a cada antimicrobiano. Por normal general, los antimicrobianos se han utilizado por un tiempo mayor que el recomendado en los RCP, así, por ejemplo, la amoxicilina se ha utilizado durante 43 días consecutivos por una de las empresas encuestadas, siendo la duración del tratamiento recomendada no más de 15 días. En el caso de la colistina, la duración del tratamiento osciló entre 30-75 días en lugar de los 7 días recomendados.

En otros casos, como los RCP de premezclas medicamentosas a base clortetraciclina, oxitetraciclina o lincomicina, únicamente se especifica en algunos de ellos “hasta remisión de síntomas”, lo cual no parece una recomendación de uso adecuada teniendo en cuenta que estos tratamientos en pienso suelen realizarse dentro de un programa de control sanitario y no suelen realizarse pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos utilizados, por lo que pueden resultar ineficaces y por tanto, los síntomas, si los hubiera previo a su uso, podrían no remitir, lo cual favorecería el desarrollo de bacterias resistentes (Ungemach et al., 2006; Love et al., 2011).

En las encuestas realizadas únicamente se obtuvieron datos sobre los principios activos utilizados y su inclusión en el pienso, pero no sobre los medicamentos comerciales utilizados por las diferentes empresas. En la práctica, la elección de un producto comercial u otro de un mismo principio activo suele estar basado en la experiencia previa del técnico veterinario y muchas veces también influye el precio del medicamento (Jensen et al., 2012). De Briyne et al. (2013), en un estudio mediante encuestas a veterinarios de diferentes países europeos, también reportaron como un factor decisivo en la elección de un medicamento la experiencia propia junto con la formación y la bibliografía publicada, aunque fue menos relevante el factor económico. En este mismo estudio, el 43% de los encuestados consultaba sólo ocasionalmente los RCP antes de iniciar un tratamiento frente

a un 34% que lo consulta regularmente, aunque en algunos países lo confundían con el prospecto. Al comparar las fichas técnicas o RCP de premezclas medicamentosas comercializadas en España, se han encontrado discrepancias importantes entre los diferentes medicamentos basados en un mismo principio activo, sobre todo relativos a las indicaciones de uso, en ocasiones demasiado genéricas, a las dosificaciones y a la duración de los tratamientos para una misma indicación. Por ejemplo, la dosis de amoxicilina indicada para el tratamiento de infecciones producidas por *Streptococcus suis*, es de 15 o 20 mg/kg de peso según el medicamento veterinario. En el caso de la clortetraciclina algunos RCP especifican una duración de los tratamientos de 5-7 días, otros de hasta 14 días y otros “hasta remisión de síntomas”. Además, muchos de ellos (consultados el 05 de Enero de 2015) hacen referencia a un uso preventivo (ej. Colimix 100 mg/g; Andrés Pinaluba, S.A. y Clortetraciclina BMP 10%; Laboratorios Serra Pàmies S.A.) o indican que “mantienen la ganancia de peso y el índice de conversión” (ej. Ganamix Tilosina 10%; Laboratorios Calier S.A., consultado el 05 de Enero de 2015), conceptos que chocan con las recomendaciones basadas en el uso prudente de antimicrobianos. La mayoría de los antimicrobianos para uso en pienso han sido autorizados hace mucho tiempo sin que se haya revisado sustancialmente la información contenida en el RCP. Esta información, no obstante, resulta relevante y puede ayudar en la decisión de prescribir un medicamento u otro, pero sería deseable, por un lado, un mayor conocimiento de este documento por parte de los veterinarios (De Briyne et al., 2013) y por otro, que la información contenida estuviera lo más actualizada posible. Para algunos antimicrobianos de importancia crítica para medicina humana como la colistina, existen recomendaciones para modificar los RCP que pueden ser extrapolables al resto de antimicrobianos entre las que se incluye que la duración del tratamiento debe estar limitado al tiempo necesario para permitir la curación, que siempre que sea posible deben realizarse pruebas de susceptibilidad antimicrobiana y que cualquier uso que se desvíe de las recomendaciones puede conllevar un fallo del tratamiento y el aumento de resistencias bacterianas (European Medicines Agency, 2013a). Afortunadamente, la nueva propuesta de reglamento sobre medicamentos veterinarios ya contempla la armonización de las fichas técnicas de los medicamentos veterinarios en cuanto a la dosificación, usos y advertencias y evitar así discrepancias, donde se contempla la reevaluación científica en caso de que hubiera riesgo para la salud o el medio ambiente (Unión Europea, 2015a).

A fecha de finalización del presente informe de tesis, el RCP de Colimix 100 mg/g había sido modificado, eliminándose el uso preventivo y contemplándose únicamente su uso curativo y metafiláctico. Además, el registro de Ganamix Tilosina 10% había sido anulado.

### 5.3 Estudio en animales sanos

Como se ha mencionado con anterioridad en este trabajo de tesis, el uso de piensos medicamentosos a base de varias premezclas medicamentosas y/o óxido de zinc es rutinario en las primeras edades del engorde en porcino. Sin embargo, no se han encontrado datos en la literatura que evalúen el comportamiento farmacocinético y la eficacia de antimicrobianos administrados de manera conjunta en un mismo pienso y *ad libitum*. Este tipo de administración implica que la dosis real ingerida varíe en función de la capacidad del animal para competir por el alimento. Esta capacidad puede estar influenciada por las diferencias en la jerarquía social del grupo (Buur et al., 2006), la densidad de animales y la competencia por el sitio en el comedero (del Castillo, 2005). Además, los animales pueden mostrar rechazo al sabor amargo que producen la mayoría de premezclas medicamentosas, por lo que su uso podría disminuir el consumo voluntario de pienso (del Castillo et al., 2002).

De todas las combinaciones que realizaban las empresas encuestadas se consideró obtener y analizar diferentes datos en animales sanos de la combinación clortetraciclina, tilosina, colistina y óxido de zinc, la cual fue administrada a un 5% de los animales de las empresas encuestadas a la entrada del engorde. A pesar de no ser una de las combinaciones más frecuentes, se eligió porque la clortetraciclina y en general las tetraciclina son de los antimicrobianos más utilizados en porcino (del Castillo et al., 2002; Burch, 2012), mientras que la tilosina y la colistina están considerados como antimicrobianos de importancia crítica (World Health Organization, 2012).

Se observó un consumo de pienso significativamente superior en el grupo de animales tratados con tilosina y óxido de zinc con respecto al resto de grupos, los cuales incluían clortetraciclina, lo cual podría sugerir que el sabor especialmente amargo de las tetraciclina podría haber causado estas diferencias en el consumo de pienso. El consumo de pienso fue registrado únicamente durante 8 días por lo que muy probablemente estas diferencias podrían ser transitorias ya que los cerdos suelen adaptarse rápidamente a

sabores amargos y, tras una caída inicial, el consumo se recupera en poco tiempo (Roura, 2012). Sin embargo, del Castillo et al. (2002) no consiguieron relacionar el sabor amargo de la clortetraciclina y la oxitetraciclina con una disminución del consumo de pienso incluso a inclusiones en pienso superiores a las recomendadas, pero algunas de uso habitual (550 o 1100 mg/kg).

El peso de los animales evolucionó de manera similar en todos los grupos excepto en el grupo tratado únicamente con clortetraciclina, en el cual el incremento de peso fue un 25% menor que en el resto. Sin embargo, teniendo en cuenta lo anteriormente expuesto, seguramente esta diferencia desaparecería una vez que los animales recuperaran el consumo tras habituarse a su sabor.

A pesar del menor consumo de pienso de los tres grupos que incluían clortetraciclina, las dosis medias (mg/kg p.v./día) ingeridas para cada antimicrobiano fueron similares entre los cuatro grupos y además estuvieron dentro de las recomendaciones descritas en las fichas técnicas de cada uno de ellos.

### **5.3.1 Concentraciones plasmáticas**

No se pudieron determinar las concentraciones plasmáticas de tilosina ya que no fue posible su detección mediante el método analítico disponible en el laboratorio. Esto podría deberse a varios motivos. Primero, las concentraciones plasmáticas de un fármaco en condiciones de administración en agua o pienso *ad libitum* suelen ser mucho más bajas que en administración forzada ya que la dosis se reparte en períodos de 24 horas y la presencia de alimento puede afectar a la absorción del fármaco (Burch, 2012). Segundo, la tilosina se distribuye rápidamente por diferentes tejidos y órganos (Prats et al., 2002) y es eliminada rápidamente del plasma al metabolizarse en el hígado por lo que su biodisponibilidad aparente es reducida. Tercero, mientras que las concentraciones plasmáticas están por debajo del límite de detección, el fármaco podría estar concentrándose en el pulmón por difusión positiva de gradientes (Burch, 2012). Este punto se ha descrito en otros animales monogástricos como la rata, donde los niveles de tilosina en medicación continua en agua durante 10 días fueron prácticamente indetectables en plasma mientras que en pulmón fueron entre 40 y 180 veces superiores (Carter et al., 1987). Por último, no sólo el pulmón podría actuar como un reservorio local del fármaco si no que la tilosina se acumula en el

citoplasma de macrófagos alveolares (Vicca et al., 2005) lo cual podría explicar la eficacia del fármaco sobre algunas bacterias a pesar de que su MIC esté muy por encima de las concentraciones plasmáticas (Burch, 2012).

Sí fue posible determinar las concentraciones plasmáticas de clortetraciclina mediante el método analítico disponible en el laboratorio. Se consideró que, tras 8 días de administración de los piensos medicamentosos, las concentraciones plasmáticas de clortetraciclina eran estables, de manera similar a un estado estacionario, lo cual parece que se consigue en administraciones en pienso o agua a partir de las 24 primeras horas de tratamiento (Kilroy et al., 1990; Burch, 2004), aunque en el estudio de del Castillo (2000) el estado estacionario se consiguió a las 72 h del inicio de la administración múltiple.

Aunque las dosis de clortetraciclina administradas a los animales sanos están dentro del rango de dosis recomendados en la ficha técnica de producto (5-20 mg/kg peso, teniendo en cuenta una inclusión en pienso de 100-400 ppm), un error en la preparación de los piensos medicamentosos hizo que la inclusión final de la clortetraciclina en pienso fuera de 266 ppm en lugar de 400 ppm tal y como se había previsto por ser una tasa de inclusión muy comúnmente utilizada y para poder comparar con dos de las granjas de animales enfermos (Artesa de Lleida y Ponts). Cabría esperar, en base al comportamiento cinético lineal de la clortetraciclina dentro del rango de dosis, que las concentraciones plasmáticas aumentaran proporcionalmente a la dosis (del Castillo et al., 2000), aunque éstas fueron más bajas que las reportadas en la literatura a dosificaciones superiores en pienso. No obstante las concentraciones plasmáticas de clortetraciclina fueron similares en todos los grupos de tratamiento administrados a 266 ppm a los reportados por Kilroy et al. (1990) a una dosis de 400 ppm de clortetraciclina en pienso durante 6 días en animales de mayor peso (Tabla 39. En el presente estudio, no hubo diferencias en las concentraciones plasmáticas de clortetraciclina para los diferentes grupos, es decir, no parece que su coadministración con otros antimicrobianos y óxido de zinc afecte a su perfil cinético.



**Tabla 39: Concentración plasmática media de clortetraciclina según el nivel de inclusión en pienso**

Grupo	Dosificación en pienso (mg CTC/kg de pienso)	Dosis (mgCTC/kg )	Peso corporal (kg)	Concentración plasmática media (µg/mL)
CTC + Ozn	266	11.6±1.1	17.1	0.42 ±0.09
CTC + TLS + OZn	266	12.5 ± 1.9	17.7	0.47±0.09
CTC + TLS + C + OZn	266	13.1 ± 3.4	19	0.47±0.10
Kilroy et al. (1990)	400		34.5-44.1	0.36±0.12
	200		18.18	0.14*
	400		18.18	0.19*

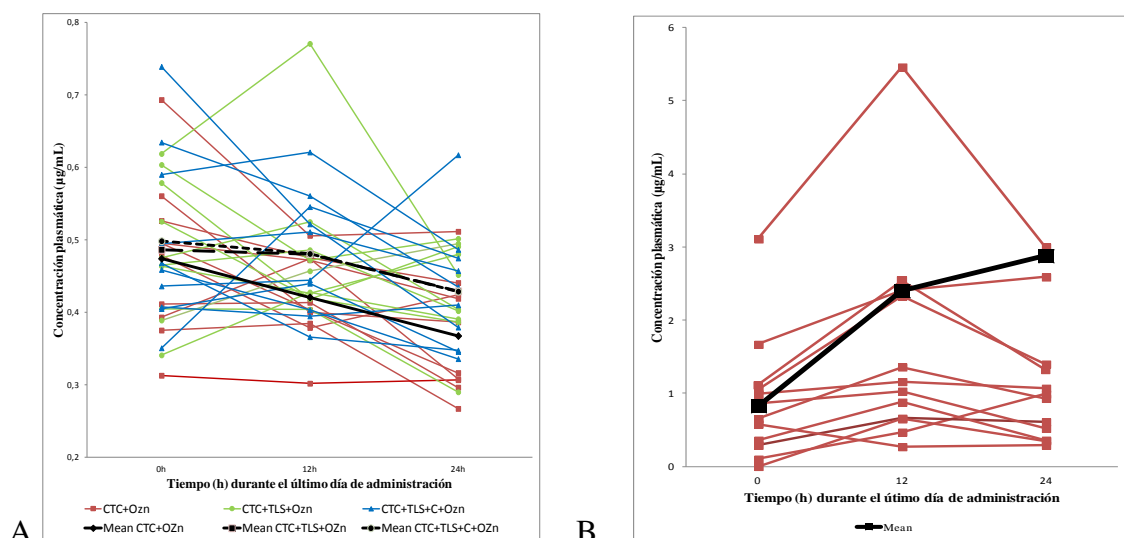
\*Valores esperados obtenidos por interpolación dada la elevada correlación ( $r^2=0.97$ ) entre las concentraciones plasmáticas y la dosis de clortetraciclina (Kilroy et al., 1990).

Las diferencias con los niveles plasmáticos encontrados en la literatura pueden deberse a factores que influyen en la biodisponibilidad real del fármaco. Por ejemplo, el tamaño, dureza y porosidad del gránulo de la premezcla, el proceso de fabricación y los excipientes utilizados influyen tanto en la capacidad de disolución del fármaco como en su capacidad de dispersión en el pienso donde va incluida (Hunter et al., 2012). Además, pueden existir interacciones entre los diferentes componentes del pienso y el fármaco que interfieren en la capacidad del fármaco para ser absorbido, como en el caso de las tetraciclinas serían el contenido en humedad o la presencia de cationes metálicos divalentes (del Castillo, 2000). En este sentido, del Castillo y Wolff (2006) demostraron diferencias significativas en el patrón de disolución y liberación del fármaco y en las interacciones con los componentes del pienso en cuatro marcas comerciales de premezclas medicamentosas a base de clortetraciclina (un 37% más de liberación en los dos productos de referencia respecto a los otros dos genéricos). Además, estas diferencias *in vitro* resultaron en diferencias de concentraciones plasmáticas *in vivo* que en uno de los casos fueron subterapéuticas durante varias horas al día en la fase de equilibrio estacionario, con el consecuente riesgo de fallo terapéutico que comporta.

Esto es relevante ya que como se ha mencionado con anterioridad, la elección de un producto comercial u otro de un mismo fármaco suele estar muy influenciada por el precio, y menos basada en criterios de eficacia terapéutica. De hecho, cabría esperar que esta eficacia terapéutica fuera equivalente para todas las premezclas medicamentosas autorizadas con formulaciones similares de un mismo principio activo y sin embargo, como se menciona en el párrafo anterior, no siempre es así.

Habría que tener en cuenta otros factores relacionados con la palatabilidad y la forma de presentación del pienso que también contribuyen a explicar las diferencias de concentraciones plasmáticas. Por ejemplo, el sabor amargo de las tetraciclinas disminuye el consumo o puede retrasar su ingesta debido a un efecto de rechazo temporal del pienso (del Castillo y Wolff, 2006). Por otra parte, los piensos pelletizados pasan más rápidamente por el estómago, llegando antes al lugar de absorción (intestino) que los piensos en harina por lo que la biodisponibilidad del fármaco puede ser diferente.

Cabe señalar, por otro lado, que la dosis diaria de un antimicrobiano se calcula para un intervalo de 24 horas sin tener en cuenta que, en la práctica, la dosis se divide de manera irregular entre las distintas tomas de alimento a lo largo del día. Estas tomas serán diferentes según el comportamiento alimenticio de cada animal, es decir, habrá unos animales que coman de golpe y otros que lo hagan en pequeñas fracciones, por tanto, la dosis, así como en humanos es una constante, en nuestro caso es una variable tanto en magnitud como en frecuencia. En consecuencia, la exposición al antimicrobiano también será diferente (Li et al., 2008). Esto se refleja en la variabilidad observada en las curvas de concentración individuales, donde, dado el patrón de ingesta mayoritariamente diurno en esta etapa productiva (del Castillo, 2000) cabría esperar que las concentraciones plasmáticas fueran más bajas por la mañana que por la tarde y sin embargo en algunos animales es al contrario, aunque los valores promedio diurnos y nocturnos fueron similares. Prats et al. (2005) observaron una variabilidad interindividual similar al administrar agua medicada con doxiciclina *ad libitum* en cerdos alojados en grupo.



\*Gráfica obtenida a partir de los datos de concentraciones plasmáticas de doxiciclina de Prats et al. (2005).

**Figura 13:** Curvas tiempo-concentración plasmática de Clotetraciclina (A) y Doxiciclina (B)\* el último día de tratamiento (de 168 a 180h y de 96 a 120h post inicio de administración, respectivamente)

Es difícil encontrar en la literatura concentraciones plasmáticas de animales administrados en pienso con clortetraciclina y alojados en grupo ya que en la mayoría de estudios publicados los animales se alojaban individualmente. Sin embargo, el modo en que los animales están alojados también influye en la ingesta de pienso y por tanto en la efectividad del tratamiento. El consumo de un animal alojado en grupo no es independiente del de los demás, ya que los cerdos tienen un comportamiento social jerarquizado. El rango social que ostentan en el corral (y las luchas que se dan para establecerlo) es uno de los mayores factores de variabilidad en el consumo de pienso y por tanto de exposición plasmática al antimicrobiano (del Castillo et al., 2006; Soraci et al., 2014). Es habitual en la práctica que los tratamientos antimicrobianos se administren en piensos en períodos donde se mezclan animales (ej. destetes o entrada a engorde) y donde estas jerarquías se deben establecer por lo que es de esperar diferencias en la exposición a los tratamientos incluso en los animales sanos.

En el estudio con animales sanos la variabilidad inter-individual en las concentraciones plasmáticas de clortetraciclina para cada grupo de tratamiento no fue tan elevada como cabría esperar según lo anteriormente expuesto. Sin embargo, en el estudio del Castillo y Wolff (2006) observaron que esta variabilidad era muy dependiente de la marca comercial de premezcla medicamentosa utilizada y lo atribuyeron a una mejor absorción oral del fármaco de dos de las premezclas frente a las otras dos restantes.

### **5.3.2 Farmacocinética de clortetraciclina**

Ninguno de los parámetros farmacocinéticos calculados (AUC,  $C_{max}$ ,  $C_{min}$  y MRT) presentaron valores significativamente diferentes entre los grupos de animales sanos, lo cual indicaría que no existieron interferencias farmacocinéticas entre los antimicrobianos coadministrados en los piensos. Esto concuerda con lo descrito en la literatura para la tilosina, la cual, a diferencia de otros macrólidos, no altera el metabolismo de los fármacos administrados conjuntamente (Anadón y Reeve-Johnson, 1999), además de que la clortetraciclina no se metaboliza en el hígado sino que se elimina inalterada mayoritariamente por vía renal (Agwuh y MacGowan, 2006).

**Tabla 40: Parámetros farmacocinéticos de clortetraciclina normalizados por la dosis**

Grupo	AUC/Dosis	C <sub>max</sub> /Dosis	MRT
CTC + Ozn	0.87	0.04	0.97
CTC + TLS + OZn	0.90	0.04	0.93
CTC + TLS + C + OZn	0.86	0.04	0.88
Kilroy et al. (1990) <sup>1</sup>	0.64	0.07	0.27
Sutter y Wanner (1990) <sup>1</sup> (en Nielsen y Gyrd-Hansen, 1996)	0.46	0.05	
Nielsen y Gyrd-Hansen (1996) <sup>1</sup>	0.28	0.02	0.33

<sup>1</sup>Administración oral única

\*Administrado a 800 ppm en pienso, a una dosis teórica de 40 mg/kg

Cuando se comparan los parámetros normalizados por la dosis con valores encontrados en la literatura se observa que la C<sub>max</sub> en el presente estudio es menor que en la mayoría de publicaciones (Kilroy et al., 1990; Sutter y Wanner, 1990 en Nielsen y Gyrd-Hansen, 1996), lo cual se explicaría por el hecho de que en el presente estudio la dosis se reparte en diferentes tomas de alimento durante 24 horas mientras que en los otros se trata de una dosis oral única forzada. En el caso de la AUC, en cambio, cabría esperar un valor similar o más bajo en nuestros grupos de tratamiento, ya que las AUC pueden estar subvaloradas debido a limitaciones en nuestro muestreo en comparación con los estudios publicados con más puntos de muestreo; sin embargo, son mayores, lo cual podría ser debido a una mayor absorción de la clortetraciclina en los grupos administrados en el presente estudio.

La legislación es muy restrictiva a la hora de autorizar la comercialización de un antimicrobiano, sobre todo en lo que respecta a su seguridad, eficacia y riesgo de generación de resistencia. Sin embargo, no se tiene en cuenta, en los estudios regulatorios necesarios, el hecho de que probablemente se van a administrar conjuntamente con otros fármacos y por tanto, tampoco se tienen en cuenta los posibles efectos de las interacciones sobre el comportamiento farmacocinético de cada uno de los fármacos.

En cambio, en la práctica, las combinaciones de al menos dos premezclas medicamentosas son más que frecuentes (ver apartados 5.1 y 5.2). Así, mientras que un producto comercial combinado sólo puede ser autorizado si se demuestra un efecto aditivo o sinérgico de los antimicrobianos que lo forman, en las combinaciones de premezclas realizadas en la fábrica de pienso se desconoce *a priori* si existe esta ventaja terapéutica o por el contrario

pueden darse casos de antagonismos, incremento de toxicidad o falta de eficacia de las premezclas combinadas.

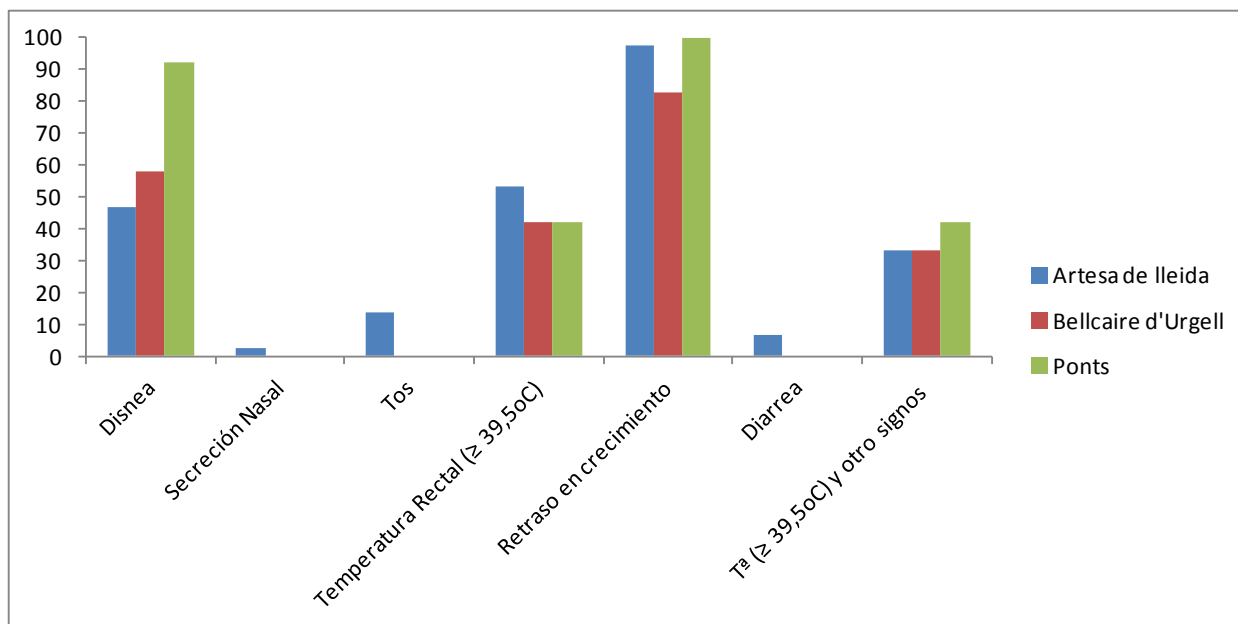
La única manera de asegurar la compatibilidad de una combinación de diferentes fármacos es mediante la realización de estudios de compatibilidad y estabilidad química, farmacocinéticas por separado y en combinación, establecimiento de tiempo de espera para la combinación, además de valorar las posibles relaciones de interacción farmacodinámica frente a las bacterias diana.

No deja de ser un contrasentido que haya directrices muy claras para la autorización de productos combinados (European Medicines Agency, 2006), mientras que la decisión de usar diferentes productos comerciales conjuntamente se deja más a criterio del veterinario, basándose en recomendaciones como “Debe evitarse la utilización de antimicrobianos de amplio espectro y de combinaciones de antimicrobianos (con la excepción de combinaciones fijas en medicamentos veterinarios autorizados)” (Unión Europea, 2015b).

#### **5.4 Estudio en animales enfermos**

Uno de los objetivos del presente trabajo de tesis fue el de valorar el efecto de la enfermedad sobre el comportamiento farmacocinético de los fármacos coadministrados y las consecuencias que conlleva sobre la potencial eficacia del tratamiento y el riesgo de generación de resistencias microbianas.

La mayoría de animales presentaban retraso en el crecimiento y palidez generalizada además de algún signo de alteración respiratoria, sobre todo disnea (Figura 14). La temperatura rectal también fue elevada en muchos animales. Por el contrario apenas se observó sintomatología de procesos entéricos.



**Figura 14:** Frecuencia de cada signo clínico en los animales seleccionados en las diferentes granjas

Esta sintomatología es compatible con la que se observa en cerdos afectados por el Complejo Respiratorio Porcino (CRP) que suele aparecer en la fase de transición y entrada a engorde (Rosell y Segalés, 2002) y donde están involucrados diferentes agentes virales, bacterianos y micoplasmas. Los análisis serológicos realizados en la granja de Artesa de Lleida confirmaron la presencia del virus del Síndrome Respiratorio y Reproductivo Porcino (PRRS, en sus siglas en inglés), el cual suele actuar como un agente primario provocando las primeras lesiones en el sistema respiratorio y predisponiendo a una infección por patógenos secundarios.

A pesar de que tanto las tetraciclinas como la tilosina estarían indicadas para el tratamiento de algunos de los microorganismos involucrados en esta patología, las medicaciones en los piensos se realizaban de manera rutinaria o profiláctica y no evitaron la aparición de la enfermedad en algunos animales. Es esperable que, sin un diagnóstico claro al ser tratamientos de rutina y en un contexto de complejo de enfermedad (es decir, diferentes patógenos actuando de manera sinérgica y sin conocer el peso relativo de cada uno de ellos en la aparición de la sintomatología), la eficacia terapéutica de estas premezclas medicamentosas sea menor que la que se da en los estudios de eficacia necesarios para su autorización en los que sí se conoce la etiología de la enfermedad. Además, como se detalla en la tabla 41, los patógenos contra los cuales son efectivos los fármacos utilizados

difieren según el producto comercial y las especificaciones de las fichas técnicas. Por ejemplo la tilosina sería efectiva únicamente contra *Lawsonia spp* si la marca comercial es Pharmasin 250 mg/g (Huvepharma NV), mientras que si es Trelacon G250 (Elanco Valquímica S.A.), también lo es para *Clostridium spp*, *Pasteurella spp* y *Mycoplasma spp*. Sin embargo, como ya se ha mencionado con anterioridad, la decisión de utilizar una marca comercial u otra depende en buena parte de la costumbre de uso (eficacia clínica en condiciones de campo) y del precio, y menos de la eficacia terapéutica teórica.

Esta falta de eficacia se reflejó en que, cuando se detectaron síntomas de enfermedad, en las tres granjas se administró un tratamiento terapéutico a todos los animales de la nave sin retirar el tratamiento en el pienso y sin realizar un diagnóstico etiológico previo. Por ejemplo, en la granja de Artesa de Lleida la veterinaria responsable sospechó de la presencia de la enfermedad de Glässer, por lo que se administró a todos los animales amoxicilina y dexametasona por vía intramuscular. El agente causal es *Haemophilus parasuis* y las tetraciclinas (ver tabla 41) han sido de los antimicrobianos más utilizados contra esta bacteria. Sin embargo en España más de un 40% de los aislados clínicos serían resistentes (Martín de la Fuente et al., 2007) y aunque la amoxicilina por vía parenteral sería un tratamiento de elección, también se ha descrito elevada resistencia de esta bacteria a los  $\beta$ -lactámicos (Martín de la Fuente et al., 2007; San Millan et al., 2007).

En la granja de Bellcaire d'Urgell se administró amoxicilina a los animales en el agua de bebida durante 7 días, además de las medicaciones en el pienso, mientras que en la granja de Ponts, todos los animales que presentaban sintomatología respiratoria fueron también medicados con dos inyecciones por vía intramuscular de florfenicol.

**Tabla 41: Indicaciones de los antimicrobianos utilizados en el estudio de animales enfermos según la ficha técnica de cada producto comercial**

Granja	Nombre Comercial	Principio Activo	Patógenos
Artesa de Lleida	Trelacon G 250 premezcla	Tilosina	Bacterias Gram +, como <i>Clostridium perfringens</i> y algunas cepas de bacterias Gram - como <i>Pasteurella spp*</i> , así como <i>Mycoplasma spp*</i> a concentraciones de 16 µg/ml o menores y <i>Lawsonia sp</i>
	CLORTETRACICLINA LSP 10% premezcla	Clortetraciclina	<i>Streptococcus spp*</i> , <i>Haemophilus spp*</i> , <i>Klebsiella spp.</i> , <i>Clostridium spp.</i> , <i>Rickettsia</i> , <i>Clamydias</i> , <i>Mycoplasma spp*</i> , Protozoos : <i>Theileria Eperythozoom Anaplasma</i>
	Colimix 100 mg/g	Colistina	<i>E. coli</i> , <i>Salmonella spp</i>
Belcaire d'Urgell	Ganamix Clortetraciclina 15% premezcla	Clortetraciclina	<i>Streptococcus spp*</i> , <i>Haemophilus spp*</i> , <i>Klebsiella spp.</i> , <i>Clostridium spp.</i> , <i>Rickettsia</i> , <i>Clamydias</i> , <i>Mycoplasma spp*</i> , Protozoos : <i>Theileria Eperythozoom Anaplasma</i>
	Lincovall 55 mg/g	Lincomicina	<i>Brachyspira hyodysenteriae</i> , <i>Mycoplasma pneumoniae*</i>
Ponts	Phamasin 250 mg/g	Tilosina	<i>Lawsonia intracellularis</i>
	Oxitetraciclina 10% MAYMO	Oxitetraciclina	<b>Bacterias Gram (+) y Gram (-):</b> Sensibles: (+): <i>Estreptococos*</i> y <i>Clostridios</i> . (-): <i>Brucellas</i> , <i>Haemophilus*</i> y <i>Klebsiellas</i> . Moderadamente sensibles: (+): <i>Corynebacterium</i> y <i>Bacillus antracis</i> . (-): <i>E. coli</i> , <i>Pasteurellas*</i> , <i>Salmonellas</i> . Resistentes: (+): <i>Proteus</i> y <i>Staphilococcus</i> . (-): <i>Pseudomonas</i> , <i>Aerobacter aerogenes</i> , <i>Shigella</i> . <b>Riquettsia spp.</b> <b>Clamydea spp.</b> <b>Mycoplasma spp.</b> Protozoos : <i>Theileria Eperythrozon Anaplasma</i> <b>Espiroquetas</b> <b>Actinomices spp.</b>
	Nipoxyme 100	Colistina	<i>E.Coli</i> , <i>Salmonella spp.</i> , <i>Shigella spp.</i> , <i>Pseudomona aeruginosa</i> y <i>Klebsiella pneumoniae</i>

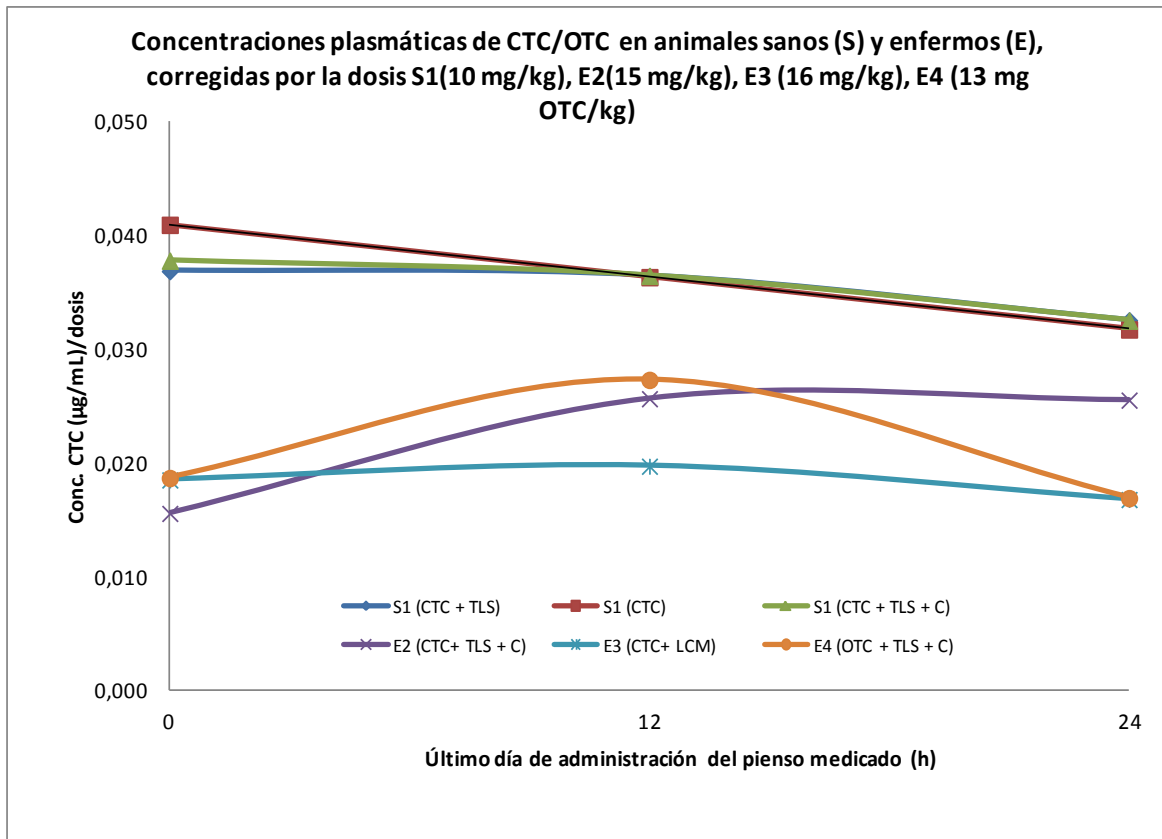
\* Patógenos implicados en el Complejo Respiratorio Porcino

En las granjas donde fue posible registrarlo (Belcaire d'Urgell y Ponts), el consumo de pienso medicamentoso fue respectivamente un 58% y un 47% menor a lo esperado para animales de la misma edad y condiciones de engorde (Anon. The Pig Site, s. f.) y por consiguiente, el peso de los animales también fue menor (34% y un 36% respectivamente) en comparación a los animales sanos. De hecho, la presencia de un proceso patológico en los animales se traduce en una disminución de la ingesta voluntaria de alimento, por ejemplo en estados febriles que pueden inducir anorexia (Pijpers et al., 1991) o en el caso de enfermedad respiratoria, ya que al reducir la capacidad respiratoria se reduce la capacidad metabólica (Nyachoti et al., 2004). Además, esta disminución de la ingesta es mayor en animales con sintomatología clínica que en situaciones de enfermedad subclínica (Sandberg et al., 2006).



### 5.4.1 Concentraciones plasmáticas

Esta disminución de la ingesta se tradujo en unas concentraciones plasmáticas menores en los animales enfermos comparados con los animales sanos.



E2: granja Artesa de Lleida; E3: granja Belcaire d'Urgell; E4: granja Ponts

**Figura 15:** Concentraciones plasmáticas de clortetraciclina/oxitetraciclina corregidas por la dosis en animales sanos y enfermos tras la administración *ad libitum* de pienso medicamentoso a base de diferentes combinaciones de antimicrobianos

### 5.4.2 Farmacocinética de clortetraciclina/oxitetraciclina

Los valores promedios obtenidos de AUC,  $C_{\max}$  y  $C_{\min}$  fueron superiores en los animales sanos que en los enfermos, como se observa en la tabla 42. Estas diferencias son esperables si, como se ha mencionado, los estados febriles disminuyen la ingesta al inducir anorexia. Sin embargo, Pijpers et al. (1991) encontraron que en cerdos con neumonía la AUC de la OTC administrada en dosis única oral era mayor que en animales sanos y lo atribuyeron a un enlentecimiento del vaciado gástrico que daría más tiempo a la OTC para ser absorbida.

**Tabla 42: Parámetros farmacocinéticos de clortetraciclina u oxitetraciclina en cerdos sanos y enfermos tras la administración *ad libitum* de pienso medicamentoso a base de diferentes combinaciones de antimicrobianos**

Grupo	Dosis de CTC/OTC (mg/kg pv)	Parámetro (corregido por la dosis)					
		AUC <sub>0-t</sub> (µg·h/mL)		C <sub>max</sub> (µg/mL)		C <sub>min</sub> (µg/mL)	
		Media	D.E.	Media	D.E.	Media	D.E.
S1: CTC + OZn	11.6 ± 1.1	0.87	0.14	0.04	0.01	0.03	0.01
S1: CTC + TLS + OZn	12.5 ± 1.9	0.85	0.14	0.04	0.01	0.03	0.004
S1: CTC + TLS + C + OZn	13.1 ± 3.4	0.86	0.13	0.04	0.01	0.03	0.004
E2: CTC + TLS + C + OZn	15.2*	0.55	0.27	0.03	0.01	0.01	0.01
E3: CTC + LCM	16.36 ± 4.00	0.45	0.28	0.02	0.01	0.02	0.01
E4: OTC + TLS + C + OZn	12.8 ± 1.6	0.55	0.23	0.03	0.01	0.02	0.01

\* Dosis estimada

E2: granja Artesa de Lleida; E3: granja Belcaire d'Urgell; E4: granja Ponts

Además, la variabilidad interindividual de estos parámetros fue mayor en los animales enfermos, donde por ejemplo para la AUC las desviaciones estándar fluctuaron entre un 41% y un 62% del valor medio calculado en los animales enfermos mientras que en los animales sanos fue menor de un 17% en los tres grupos. Este incremento en la variabilidad (ya importante en animales sanos) puede atribuirse por un lado a las diferencias en el consumo individual de pienso de cada animal y por otro a que el estado de enfermedad afecte al flujo sanguíneo, al tránsito gastrointestinal o a la función de algunos órganos como el hígado o el riñón que varíen la disposición del fármaco en cada animal (Pijpers et al., 1991).

En la granja de Ponts se utilizó una combinación de antimicrobianos que incluía oxitetraciclina en lugar de clortetraciclina. Este cambio fue detectado durante la fase de obtención de muestras y tras revisar la documentación del pienso con el ganadero. Por

norma general las medicaciones rutinarias en las granjas integradas se deciden según el criterio del el servicio técnico veterinario de la fábrica de piensos (ver apartado 5.1) y el ganadero no suele revisarlas. En este caso, el cambio se debió a que no se disponía de clortetraciclina en la fábrica por lo que se cambió por oxitetraciclina. Esta decisión, por tanto, no fue basada en criterios farmacocinéticos o de eficacia terapéutica y sin embargo, en muchas ocasiones se utilizan indistintamente (del Castillo, 2000). Aunque en nuestro estudio en animales enfermos las concentraciones plasmáticas y los parámetros farmacocinéticos obtenidos de oxitetraciclina fueron similares a los de clortetraciclina, está descrito que la clortetraciclina es más biodisponible y se distribuye en mayor medida, lo cual explicaría unas concentraciones del fármaco en sangre y pulmón mayores que en el caso de la oxitetraciclina (del Castillo y Wolff, 2006). Estas diferencias hacen que la clortetraciclina se demuestre más eficaz que la oxitetraciclina para la mayoría de bacterias implicadas en el CRP (Wolff, 2003).

## **5.5 Estudio farmacocinético/farmacodinámico**

En las tablas 43 y 44 se detallan las bacterias y micoplasmas contra los cuales serían efectivas las premezclas medicamentosas de clortetraciclina y oxitetraciclina con autorización vigente en España para su uso en porcino, según la ficha técnica de cada una de ellas (última consulta realizada en noviembre 2015).

Resulta curioso observar las diferencias entre los productos comerciales a base de clortetraciclina frente a los patógenos contra los que serían efectivos, según sus respectivos RCP. Siendo la mayoría de ellos productos genéricos, el espectro de acción debería ser similar para todos al tener la misma composición cualitativa y cuantitativa en principio activo, la misma forma farmacéutica y ser bioequivalentes con respecto al producto de referencia. No obstante, en la práctica, como se ha mencionado con anterioridad, el veterinario no tiene en cuenta esta información y su elección se basa más en su experiencia previa (efectividad clínica en condiciones de campo) y en el coste del tratamiento que en la eficacia teórica de cada producto comercial.

**Tabla 43: Actividad antimicrobiana de premezclas medicamentosas de clortetraciclina**

Microorganismo	Clortetraciclina LSP 10% (Laboratorios Serra Pamies, S.A.)	Ganamix Clortetraciclina 15% (Laboratorios Calier, S.A.)	Aurofac 250 mg/g (Zoetis Spain, S.L.)	CEN-X-185 (Cenavisa, S.L.)	Clorvall 50 g/kg (Mevet S.A.U.)
<i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>			x	x	x
<i>Bordetella bronchiseptica</i>			x	x	
<i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i>			x		
<i>Escherichia coli</i>			x		
<i>Haemophilus parasuis</i>	x	x	x	x	x
<i>Leptospira spp</i>			x		
<i>Lawsonia intracellularis</i>			x		
<i>Mycoplasma spp</i>			x		x
<i>Pasterella multocida</i>			x	x	x
<i>Streptococcus suis</i>	x	x	x	x	x
<i>Klebsiella spp</i>	x	x		x	x
<i>Clostridium spp</i>	x	x		x	x
<i>Chlamydia spp</i>					x
<i>Rickettsia spp</i>				x	

Tabla 44: Actividad antimicrobiana de premezclas medicamentosas de oxitetraciclina

Microorganismo	Apsamix Oxitetraciclina 20% (Andrés Pinaluba, S.A.)	Oxitetraciclina BMP 10% (Laboratorios Serra Pamies, S.A.)	Oxitetraciclina 100 mg/g Maymó (Laboratorios Maymó, S.A.)	Oxiteve (Laboratorios ITEVE, S.A.)	Oxitevall premezcla 200 (Mevet S.A.)	Z-19 (Laboratorios e Industrias Iven, S.A.)
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	x <sup>s</sup>					
<i>Escherichia coli</i>	x <sup>m</sup>	x <sup>m</sup>	x <sup>m</sup>	x <sup>m</sup>	x <sup>m</sup>	x <sup>m</sup>
<i>Haemophilus parasuis</i>	x <sup>s</sup>	x <sup>s</sup>	x <sup>s</sup>	x <sup>s</sup>	x <sup>s</sup>	x <sup>s</sup>
<i>Leptospira spp</i>		x	x	x	x	x
<i>Mycoplasma spp</i>	x <sup>s</sup>	x	x	x	x	x
<i>Pasterella multocida</i>	x <sup>m</sup>	x <sup>m</sup>	x <sup>m</sup>	x <sup>m</sup>	x <sup>m</sup>	x <sup>m</sup>
<i>Streptococcus suis</i>	x <sup>s</sup>	x <sup>s</sup>	x <sup>s</sup>	x <sup>s</sup>	x <sup>s</sup>	x <sup>s</sup>
<i>Klebsiella spp</i>	x <sup>s</sup>	x <sup>s</sup>	x <sup>s</sup>	x <sup>s</sup>	x <sup>s</sup>	x <sup>s</sup>
<i>Clostridium spp</i>	x <sup>s</sup>	x <sup>s</sup>	x <sup>s</sup>	x <sup>s</sup>	x <sup>s</sup>	x <sup>s</sup>
<i>Chlamydia spp</i>		x	x	x	x	x
<i>Rickettsia spp</i>		x	x	x	x	x
<i>Brucella spp</i>	x <sup>s</sup>	x <sup>s</sup>	x <sup>s</sup>	x <sup>s</sup>	x <sup>s</sup>	x <sup>s</sup>
<i>Salmonella spp</i>	x <sup>m</sup>	x <sup>m</sup>	x <sup>m</sup>	x <sup>m</sup>	x <sup>m</sup>	x <sup>m</sup>
<i>Corynebacterium spp</i>	x <sup>m</sup>	x <sup>m</sup>	x <sup>m</sup>	x <sup>m</sup>	x <sup>m</sup>	x <sup>m</sup>
<i>Bacillus anthracis</i>	x <sup>m</sup>	x <sup>m</sup>	x <sup>m</sup>	x <sup>m</sup>	x <sup>m</sup>	x <sup>m</sup>

<sup>s</sup>: sensible; <sup>m</sup>: moderadamente sensible

Las tetraciclinas, como antimicrobianos bacteriostáticos, son consideradas tiempo-dependientes (del Castillo, 2000) con un prolongado efecto post-antibiótico (PAE), por lo que la relación AUC/MIC es el índice PK/PD que mejor definiría su eficacia (del Castillo, 2000; Jacobs, 2003). Sin embargo, dado que los parámetros farmacocinéticos están interrelacionados, no siempre es fácil discriminar cuál de ellos describe mejor la eficacia antimicrobiana. Además, parece que este índice no está bien descrito para muchos patógenos en animales, por lo que otros autores consideran que el  $T > MIC$  define mejor la eficacia de las tetraciclinas (Apley, 2015).

En el presente trabajo de tesis, Clortetraciclina LSP 10% (en animales sanos y en animales enfermos de la granja de Artesa de Lleida) y Ganamix Clortetraciclina 15% (en animales enfermos de la granja de Bellcaire d'Urgell) fueron los dos productos comerciales a base de clortetraciclina utilizados en la fase experimental. De los patógenos frente a los cuales serían efectivos, según sus respectivos RCP, se obtuvieron los índices PK/PD para *Haemophilus parasuis* y *Streptococcus suis*. Según estos valores, extremadamente bajos, estos tratamientos con clortetraciclina en pienso no serían eficaces a las dosis administradas. De manera similar para el producto comercial a base de oxitetraciclina utilizado en animales enfermos en la granja de Ponts (Oxitetraciclina 100mg/g MAYMO), su uso no resultaría eficaz en presencia de cualquier patología donde estuvieran implicados *Haemophilus parasuis*, *Mycoplasma* o *Pasterella multocida* (ver tablas 36 y 37 del apartado 4.5.1 de Resultados).

Lo mismo ocurre con el resto de patógenos para los cuales se han podido recopilar valores de MIC para clortetraciclina y oxitetraciclina. Cabe señalar que estos valores se obtienen de estudios realizados en diferentes países, con diferente número de aislados obtenidos, con condiciones de uso de antimicrobianos también distintas y distanciados en el tiempo. Aunque la extrapolación a la situación real no puede ser directa, es evidente que, para algunos patógenos y dado el uso generalizado de las tetraciclinas en España, estos índices son aún peores.

Sería el caso de *P. multocida*, donde la MIC<sub>90</sub> pasó de 1 µg/mL a finales de los 80 a 8 µg/mL en 2004 (Vera Lizarazo et al., 2006), siendo además del doble del valor reportado para EEUU (Mills et al., 2008) utilizado en nuestros cálculos. Gutiérrez-Martín et al. (2006)

también observaron un aumento de la resistencia de *A. pleuropneumoniae* a tetraciclinas en España con un 26.3% de aislados resistentes en 1993 hasta llegar al 73.8% en 2004 y con una MIC<sub>50</sub> que creció de 1 a 32 µg/mL durante este período.

Los índices PK/PD obtenidos reflejan además la variabilidad observada en las concentraciones plasmáticas y en los parámetros farmacocinéticos. Así por ejemplo, el valor medio de AUC/MIC para clortetraciclina frente a *B. bronchiseptica* obtenido en animales sanos, aunque cercano, no llega al valor mínimo de 25-30 considerado para individuos inmunocompetentes (Craig, 1998), aunque los valores individuales de algunos sí lo sobrepasan. Lo mismo ocurre con el T>MIC, que debería ser de al menos un 50% del intervalo de dosificación para individuos inmunocompetentes o de un 100% en caso de no serlo (Cunha & Mattoes, 2002). Dicha variabilidad, directamente relacionada con el estado de salud, la vía de administración y con el comportamiento alimenticio de los animales, hace difícil asegurar una respuesta terapéutica favorable que garantice que todos los animales sean tratados satisfactoriamente.

## **5.6 Repercusiones del uso de antimicrobianos en pienso en la actualidad**

Tras lo expuesto anteriormente podemos decir que, en realidad, estos antimicrobianos estarían actuando como simples promotores de crecimiento, ayudando al sistema inmunitario a controlar la presión infectiva de los patógenos, ya que a concentraciones sub-MIC reducirían la tasa de crecimiento bacteriano aunque sin inducir una disminución de la población bacteriana (del Castillo, 2000). Además, podrían estar facilitando la fagocitosis y la muerte intracelular de las bacterias dado su efecto postantibiótico por estimulación de leucocitos (PALE), el cual suele ser mayor en antimicrobianos con prolongado PAE, como es el caso de las tetraciclinas (McKellar et al., 2004). Es decir, a pesar de que a las dosis administradas en el presente trabajo no se asegura la curación clínica de los animales, sí existe un efecto de control de la enfermedad debido al *efecto inóculo* por el cual, a menor carga bacteriana durante fases tempranas de la enfermedad, menor dosis y concentración de antimicrobiano se requiere para ser efectivo (Martinez et al., 2013).

Como contrapartida, estas concentraciones subterapéuticas, administradas durante períodos prolongados han favorecido la aparición de resistencias, por la permanente presión de selección que ejerce sobre la flora bacteriana, la cual se produce incluso a concentraciones extremadamente bajas (Gullberg et al., 2011). Looft et al. (2012) demostraron que dosis subterapéuticas de la combinación de clortetraciclina, sulfametazina y penicilina administrada en pienso a lechones provocaba un cambio en la flora bacteriana y que los genes implicados en los mecanismos de resistencia aumentaron y fueron más diversos en los animales medicados frente a los no medicados. Además, algunos genes demostraron su potencial para resistencias cruzadas a otros antibióticos no administrados en el pienso.

Otra conclusión que se desprende de los resultados obtenidos es que los RCP de los productos comerciales a base de clortetraciclina y oxitetraciclina para administración en pienso que existen en el mercado español deben ser revisados, sobre todo por lo que respecta las dosis y duración de los tratamientos propuestos. A pesar de que el texto del RCP ha sido revisado muy recientemente en algunos casos, por ejemplo, Clorvall 50 g/kg en 2014 y Aurofac 250 mg/g en 2013, las dosis recomendadas de uso son las mismas que en el caso de Clortetraciclina BMP 10% cuyo última revisión del texto fue en 1994, mientras que la susceptibilidad a las tetraciclinas de bacterias como *A. pleuropneumoniae* ha disminuido considerablemente en un período de tiempo similar (Gutiérrez-Martín et al., 2006). Esta disminución de la efectividad de la clortetraciclina ha sido constatada en el presente trabajo de tesis, donde en algunas de las empresas encuestadas la dosificación rutinaria en pienso estaba siendo de 600 ppm en lugar de 400 ppm. Por otra parte, aunque en la mayoría se refieren a dosis terapéuticas, la ficha técnica de Aurofac 250 mg/g indica que la misma dosis está indicada tanto para el tratamiento como para el control (metafilaxis) del complejo respiratorio porcino, cuando seguramente estas dosis serán diferentes ya que el PK/PD breakpoint (es decir el valor de AUC/MIC o  $T > MIC$ ) será diferente si el objetivo es la erradicación del patógeno o el control de la enfermedad. Estas dosis, a nivel regulatorio se obtienen a partir de estudios de titulación de dosis (partiendo de una dosis que se cree eficaz e incluyendo una dosis inferior y una superior) en los cuales se utiliza un diseño paralelo donde se compara la dosis con la respuesta (eliminación o reducción del agente causal). Sin embargo, la dosis seleccionada como la más efectiva no tiene por qué ser la óptima, ya que obligatoriamente será una de las que se estén testando y es muy dependiente del número de animales que se incluyen en el estudio.



La disminución o falta de eficacia de un medicamento debería ser reportado, en el caso español, a la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS) a través de los mecanismos establecidos por el Servicio Español de Farmacovigilancia (SEFV). De hecho, la legislación vigente (España, 2015) considera un *deber* de los veterinarios, ganaderos y laboratorios farmacéuticos el comunicar cualquier sospecha de reacción adversa, entre las que se incluye la falta de eficacia, que pudiera indicar la aparición de resistencias. Estas notificaciones, una vez evaluadas por el SEFV pueden dar lugar a la solicitud de nuevos estudios postautorización, revisiones de los RCP de los productos autorizados o incluso la suspensión de la autorización o su extinción definitiva. Sin embargo, de las 1148 notificaciones de efectos adversos que recibió el SEFV en 2014, sólo un 2% hacían referencia a antimicrobianos, y de ellos, en sólo tres casos (del mismo principio activo), el texto del RCP tuvo que ser revisado, aunque ninguno de estos casos estaba relacionado con una falta de eficacia. Por tanto, parece evidente que este mecanismo no está resultando efectivo, posiblemente por desconocimiento del sistema por parte de veterinarios y ganaderos, por falta de datos objetivos o por falta de tiempo o interés.

La normativa europea también permite la modificación de los RCP (también el folleto y el etiquetado) de los productos autorizados cuando se sospecha de un posible riesgo para la salud humana o animal. El riesgo de aparición de resistencias es el principal motivo por el que se pueden iniciar procedimientos de arbitraje tras los cuales la Comisión Europea puede decidir modificar una autorización, revisar el RCP o suspender la comercialización de un antimicrobiano. Algunos de los RCP que, hasta la fecha, han sufrido modificaciones tras este procedimiento hacen referencia a antimicrobianos de importancia crítica para la medicina humana como es el caso de quinolonas, cefalosporinas de tercera y cuarta generación, colistina y tilosina.

Por otra parte, las últimas directrices de la Unión Europea respecto al uso prudente de antimicrobianos en la práctica veterinaria (Unión Europea, 2015b) recomiendan, entre otras medidas, evitar el uso de antimicrobianos de amplio espectro, que su uso nunca sea profiláctico, y que estos tratamientos no sean masivos, si no que se aisle y se trate por vía parenteral a los animales afectados. A nivel español, y dentro del *Plan estratégico y de acción para reducir el riesgo de selección y diseminación de la resistencia a antibióticos* (AEMPS, 2014), se pretende que el uso profiláctico sólo se pueda dar en situaciones y

enfermedades en las cuales este uso sea justificado y necesario. Sin embargo, en la práctica es difícil seguir estas pautas y además tiene un coste económico elevado, como lo demuestran las experiencias previas de los países nórdicos. De hecho, la prohibición de los promotores de crecimiento en estos países marcó un punto de inflexión y, aunque según Aarestrup et al. (2010) la productividad de granjas danesas no se vio afectada por esta prohibición, Hughes y Heritage (2004) sí argumentan, al observar el caso de Suecia, que se produjo un aumento considerable de la mortalidad tras la prohibición, a pesar de las mejoras en el bienestar de los animales. Obviamente, las mejoras genéticas, de instalaciones y de las prácticas de manejo desde la prohibición a la actualidad han contribuido a aumentar la prolificidad de las cerdas y la viabilidad de los lechones a la vez que se disminuía el uso de antimicrobianos en estos países. No obstante, el coste de estas mejoras es elevado, como demuestra el hecho de que los costes de producción de países como Suecia, Finlandia o Dinamarca (en los cuales se basan la mayoría de las recomendaciones) son de los más altos de la Unión Europea, muy por encima de España, que en el período 2010-2014 presentó los costes de producción más bajos de toda la Unión (SIP Consultors, 2014). Además, el sistema de producción en Catalunya y España difiere mucho del de estos países, donde el número de explotaciones es mucho menor, de menor tamaño y con mano de obra mucho más cualificada.

En 2015, España, superó por primera vez a Alemania como mayor productor porcino de la Unión Europea (Anon., 2016) y, sin embargo, las cifras de consumo de antimicrobianos en este país no difieren mucho de las de España (European Medicines Agency, 2013b). Parece evidente, por tanto, que una restricción mayor del uso profiláctico de antimicrobianos puede tener un impacto considerable en la competitividad del sector porcino español.

La Unión Europea ha aplicado el “principio de precaución” para prohibir el uso de promotores de crecimiento, reducir al mínimo el uso de antimicrobianos en animales y disminuir los posibles riesgos de fallo terapéutico tanto en animales como en humanos. En cambio, en Estados Unidos se siguen utilizando dosis subterapéuticas de antimicrobianos en animales productores de alimentos alegando que no existen datos empíricos que demuestren el riesgo para la salud de las personas (Cox y Popken, 2010), más al contrario, estos autores, argumentan que la prohibición existente en Europa tampoco ha ayudado a

mejorar la salud humana, poniendo de ejemplo el caso de Dinamarca, donde el uso hospitalario de antimicrobianos creció un 63% entre 1997 y 2007.

Se estima que producir 1 kg de carne de cerdo es un 41% más caro en la Unión Europea que en Estados Unidos, y que sólo el hecho de tener una legislación más restrictiva, en Europa se encarece la producción de carne en 13€/100 kg (Pazos Morán y Fernández Poza, 2015). Si finalmente se acaba firmando el acuerdo de libre comercio entre la Unión Europea y Estados Unidos (*Transatlantic Trade and Investment Partnership-TTIP*) y después de todos los esfuerzos realizados en Europa para controlar la aparición de resistencias antimicrobianas, lo que repercuten directamente en los costes de producción de los ganaderos europeos, cabría preguntarse por los mecanismos que deberían poner en marcha las autoridades europeas para favorecer el consumo de carne porcina europea frente a la de Estados Unidos, mucho más barata y supuestamente menos saludable.

## 6 CONCLUSIONES

1. El sistema de integración porcina, mayoritario en Catalunya, y el hecho de que la empresa fabricante de pienso sea la propietaria de los animales pueden favorecer que esta vía de administración sea la más utilizada en porcino ya que permite estandarizar tratamientos y tratar a un número elevado de animales con costes relativamente bajos.
2. La producción anual de piensos medicamentosos de las empresas encuestadas representó un 18.2% del total de pienso para porcino producido en Catalunya y un 27.5% de la producción total de los destinados a las primeras etapas de vida (1 a 70 días de edad o 20 kg de peso).
3. Todas las empresas utilizaban antimicrobianos y/o óxido de zinc de manera rutinaria y preventiva desde el nacimiento hasta las primeras semanas de entrada a engorde.
4. El 100% de los animales de las empresas encuestadas consumieron, como mínimo 2 antimicrobianos durante los primeros 70 días de vida.
5. Se identificaron 11 antimicrobianos de ocho clases diferentes utilizados como premezclas medicamentosas en los piensos, de los que tres clases,  $\beta$ -lactámicos, polimixinas y macrólidos están clasificados como antimicrobianos de importancia crítica (CIA).
6. La amoxicilina y la colistina fueron los antimicrobianos más utilizados hasta los 70 días de vida y el uso de colistina se alargaba hasta los primeros 15 días de engorde, es decir se utilizaba al menos durante los 3 primeros meses de vida de los animales. El uso de tetraciclinas fue también mayoritario (66%) al final de la transición (42-70 días de vida).
7. La combinación de amoxicilina, colistina y óxido de zinc fue mayoritaria en los piensos hasta los 42 días de vida. A partir de esta edad, los tratamientos se diversificaron, siendo la combinación de clortetraciclina, amoxicilina y lincomicina la más frecuente en el pienso starter (42 a 70 días) y la combinación fenoximetilpenicilina y colistina en el pienso de entrada a engorde.

8. A pesar de que tanto las incompatibilidades entre antimicrobianos como la dosificación y la duración de los tratamientos se describen en la ficha técnica de los productos comerciales, el 42% de las combinaciones utilizadas por las empresas encuestadas contenían al menos un antimicrobiano con efecto antagónico al resto y la duración de los tratamientos fue muy superior al recomendado para algunos antimicrobianos.
9. En animales sanos, ningún parámetro farmacocinético (AUC,  $C_{max}$ ,  $C_{min}$  y MRT) de la clortetraciclina se vio afectado por la coadministración de tilosina, colistina y óxido de zinc.
10. La presencia de enfermedad aumentó la variabilidad en los perfiles cinéticos de la clortetraciclina, pero las magnitudes de la AUC,  $C_{max}$  y  $C_{min}$  fueron significativamente menores que en los animales sanos.
11. La clortetraciclina o la oxitetraciclina, a las dosis recomendadas, no resultarían eficaces contra los patógenos descritos en las fichas técnicas de los productos comerciales utilizados en los piensos.
12. Estas dosis subterapéuticas de clortetraciclina no aseguran la curación clínica pero tienen un efecto de control de la enfermedad. Como contrapartida, actuarían favoreciendo la aparición de resistencias.
13. Estas dosis subterapéuticas no evitaron la aparición de enfermedad respiratoria, a pesar de que tanto las tetraciclinas como los macrólidos son fármacos de elección para el tratamiento del CRP. Además, a estos animales se les administraron 1 o 2 antimicrobianos más sin retirar el tratamiento en el pienso.
14. Las fichas técnicas de los productos comerciales a base de clortetraciclina y oxitetraciclina administrados en pienso deben ser revisadas para asegurar que las dosis recomendadas son realmente eficaces en el contexto de aumento de resistencias existente en la actualidad.

## 7 BIBLIOGRAFÍA

- Aarestrup, F. M. (2005). Veterinary drug usage and antimicrobial resistance in bacteria of animal origin. *Basic & clinical pharmacology & toxicology*, 96, 271-281. <http://doi.org/10.1111/j.1742-7843.2005.pto960401.x>
- Aarestrup, F. M., Cavaco, L., & Hasman, H. (2010). Decreased susceptibility to zinc chloride is associated with methicillin resistant *Staphylococcus aureus* CC398 in Danish swine. *Veterinary microbiology*, 142(3-4), 455-7. <http://doi.org/10.1016/j.vetmic.2009.10.021>
- Aarestrup, F. M., & Friis, N. F. (1998). Antimicrobial susceptibility testing of *Mycoplasma hyosynoviae* isolated from pigs during 1968 to 1971 and during 1995 and 1996. *Veterinary microbiology*, 61(1-2), 33-9.
- Aarestrup, F. M., Jensen, V. F., Emborg, H. D., Jacobsen, E., & Wegener, H. C. (2010). Changes in the use of antimicrobials and the effects on productivity of swine farms in Denmark. *American Journal of Veterinary Research*, 71(7), 726-733. <http://doi.org/10.2460/ajvr.71.7.726>
- Aarestrup, F. M., & Wegener, H. C. (1999). The effects of antibiotic usage in food animals on the development of antimicrobial resistance of importance for humans in *Campylobacter* and *Escherichia coli*. *Microbes and Infection*, 1(8), 639-644. [http://doi.org/10.1016/S1286-4579\(99\)80064-1](http://doi.org/10.1016/S1286-4579(99)80064-1)
- AEMPS. (2008). Premezclas medicamentosas con autorización vigente para 2009.
- AEMPS. (2014). Plan estratégico y de acción para reducir el riesgo de selección y diseminación de resistencias a los antibióticos.
- Agwuh, K. N., & MacGowan, A. (2006). Pharmacokinetics and pharmacodynamics of the tetracyclines including glycylicyclines. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 58(2), 256-265. <http://doi.org/10.1093/jac/dkl224>
- Aliabadi, F. S., & Lees, P. (2000). Antibiotic treatment for animals: Effect on bacterial population and dosage regimen optimisation. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 14(4), 307-313. [http://doi.org/10.1016/S0924-8579\(00\)00142-4](http://doi.org/10.1016/S0924-8579(00)00142-4)
- Anadón, A. (2007). Antibióticos de uso veterinario y su relación con la seguridad alimentaria y salud pública. En *INSTITUTO DE ESPAÑA REAL ACADEMIA DE CIENCIAS VETERINARIAS*.
- Anadón, A., & Reeve-Johnson, L. (1999). Macrolide antibiotics, drug interaction and microsomal enzymes: implications for veterinary medicine. *Research in veterinary science*, 66, 197-203.
- Anon. (2016). Última hora: España es el país con mayor censo porcino de la UE, superando a Alemania. Recuperado a partir de [https://www.3tres3.com/ultima-hora/espana-es-el-pais-con-mayor-censo-porcino-de-la-ue-superando-a-aleman\\_36228/](https://www.3tres3.com/ultima-hora/espana-es-el-pais-con-mayor-censo-porcino-de-la-ue-superando-a-aleman_36228/)
- Anon. The Pig Site. (s. f.). Daily Feed Intake. Recuperado a partir de <http://www.thepigsite.com/stockstds/18/daily-feed-intake/>
- antibiotics-info.org. (s. f.). Recuperado a partir de <http://www.antibiotics-info.org/>

- Apley, M. (2015). Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Antimicrobials in Swine. <http://doi.org/10.1007/s13398-014-0173-7.2>
- Apley, M. D., Bush, E. J., Morrison, R. B., Singer, R. S., & Snelson, H. (2012). Use estimates of in-feed antimicrobials in swine production in the United States. *Foodborne pathogens and disease*, 9(3), 272-9. <http://doi.org/10.1089/fpd.2011.0983>
- Athamna, A., Athamna, M., Medlej, B., Bast, D. J., & Rubinstein, E. (2004). In vitro post-antibiotic effect of fluoroquinolones, macrolides,  $\beta$ -lactams, tetracyclines, vancomycin, clindamycin, linezolid, chloramphenicol, quinupristin/dalfopristin and rifampicin on *Bacillus anthracis*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 53(4), 609-615. <http://doi.org/10.1093/jac/dkh130>
- Bartley, E.E., Fountaine, F.C. and Atkeson, F. W. (1950). The effects of an APF concentrate containing aureomycin on the growth and well-being of young dairy calves. *Journal of Animal Science*, 9, 646-647.
- Baxter, P., & McKellar, Q. (1995). Plasma and lung concentrations of oxytetracycline after its intramuscular administration in rats. *Laboratory animal science*, 45(1), 107-9.
- Boerlin, P., & White, D. G. (2013). Antimicrobial Resistance and Its Epidemiology. En J. F. P. and P. M. D. Steeve Giguère (Ed.), *Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine, Fifth Edition. Edited by Steeve Giguère, John F. Prescott and Patricia M. Dowling*. (Fifth, pp. 21-40). John Wiley & Sons, Inc. Published.
- Bondt, N., Jensen, V. F., Puister-Jansen, L. F., & van Geijlswijk, I. M. (2013). Comparing antimicrobial exposure based on sales data. *Preventive Veterinary Medicine*, 108(1), 10-20. <http://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2012.07.009>
- Boothe, D. M. (2004). Drugs and Bugs II: What Diagnostics Don't Tell You. En *World Small Animal Veterinary Association*.
- Boucher, H. W., Talbot, G. H., Bradley, J. S., Edwards, J. E., Gilbert, D., Rice, L. B., ... Bartlett, J. (2009). Bad bugs, no drugs: no ESKAPE! An update from the Infectious Diseases Society of America. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 48(1), 1-12. <http://doi.org/10.1086/595011>
- Bousquet, E., Morvan, H., Aitken, I., & Morgan, J. H. (1997). Comparative in vitro activity of doxycycline and oxytetracycline against porcine respiratory pathogens. *The Veterinary record*, 141, 37-40.
- Burch, D. G. S. (2004). The comparative efficacy of antimicrobials for the prevention and treatment of enzootic pneumonia and some of their pharmacokinetic/pharmacodynamic relationships. *The Pig Journal*, 53, 8-27.
- Burch, D. G. S. (2010). Antimicrobial concentrations in plasma and lung and their relationships to bacterial respiratory infections. *The Pig Journal*, 63, 34-49.
- Burch, D. G. S. (2012). *Examination of the pharmacokinetic / pharmacodynamic (PK / PD) relationships of orally administered antimicrobials and their correlation with the therapy of various bacterial and mycoplasmal infections in pigs*. London University.
- Burch, D. G. S., Duran, C. O., & Aarestrup, F. M. (2009). Guidelines for Antimicrobial Use in Swine. En *Guide to Antimicrobial Use in Animals* (pp. 102-125). Oxford, UK: Blackwell Publishing, Ltd. <http://doi.org/10.1002/9781444302639.ch7>

- Buur, J., Baynes, R., Smith, G., & Riviere, J. (2006). Use of probabilistic modeling within a physiologically based pharmacokinetic model to predict sulfamethazine residue withdrawal times in edible tissues in swine. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 50(7), 2344-2351. <http://doi.org/10.1128/AAC.01355-05>
- Bywater, R. J. (2004). Veterinary use of antimicrobials and emergence of resistance in zoonotic and sentinel bacteria in the EU. *Journal of Veterinary Medicine Series B: Infectious Diseases and Veterinary Public Health*, 51(8-9), 361-363. <http://doi.org/10.1111/j.1439-0450.2004.00791.x>
- Bywater, R., Silley, P., & Simjee, S. (2006). Antimicrobial breakpoints-Definitions and conflicting requirements. *Veterinary Microbiology*, 118(1-2), 158-159. <http://doi.org/10.1016/j.vetmic.2006.09.005>
- Callens, B., Boyen, F., Catry, B., Ingenbleek, a., Butaye, P., Haesebrouck, F., ... Dewulf, J. (2012). Reply to letter to the Editor by Moore and Elborn (2012) concerning the manuscript «Prophylactic and metaphylactic antimicrobial use in Belgian fattening pig herds» by B. Callens et al. (2012). *Preventive Veterinary Medicine*, 107(3-4), 288-290. <http://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2012.09.007>
- Carter, K. K., Hietala, S., Brooks, D. L., & Baggot, J. D. (1987). Tylosin concentrations in rat serum and lung tissue after administration in drinking water. *Laboratory animal science*, 37(4), 468-70.
- Carvajal, A., De Arriba, L., Rodríguez, H., Vidal, A. B., Duhamel, G. E., & Rubio, P. (2006). Short Communications Prevalence of Brachyspira species in. *Veterinary Record*, 158, 700-1.
- Casal, J., Mateu, E., Mejía, W., & Martín, M. (2007). Factors associated with routine mass antimicrobial usage in fattening pig units in a high pig-density area. *Veterinary Research*, 38, 481-492. <http://doi.org/10.1051/vetres:2007010>
- Casewell, M., Friis, C., Marco, E., McMullin, P., & Phillips, I. (2003). The European ban on growth-promoting antibiotics and emerging consequences for human and animal health. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, 52(2), 159-61. <http://doi.org/10.1093/jac/dkg313>
- Catry, B., Cavaleri, M., Baptiste, K., Grave, K., Grein, K., Holm, A., ... Edo, J. T. (2015). Use of colistin-containing products within the European Union and European Economic Area (EU/EEA): development of resistance in animals and possible impact on human and animal health. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 46(3), 297-306. <http://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2015.06.005>
- Catry, B., Laevens, H., Devriese, L. a., Opsomer, G., & De Kruif, a. (2003). Antimicrobial resistance in livestock. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 26, 81-93. <http://doi.org/10.1046/j.1365-2885.2003.00463.x>
- Cavaco, L. M., Hasman, H., & Aarestrup, F. M. (2011). Zinc resistance of Staphylococcus aureus of animal origin is strongly associated with methicillin resistance. *Veterinary microbiology*, 150(3-4), 344-8. <http://doi.org/10.1016/j.vetmic.2011.02.014>
- Chantziaras, I., Boyen, F., Callens, B., & Dewulf, J. (2014). Correlation between veterinary antimicrobial use and antimicrobial resistance in food-producing animals: a report on seven countries. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, 69(3), 827-34. <http://doi.org/10.1093/jac/dkt443>



- Chopra, I., Hawkey, P. M., & Hinton, M. (1992). Tetracyclines, molecular and clinical aspects. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, 29(3), 245-77.
- Chopra, I., & Roberts, M. (2001). Tetracycline Antibiotics: Mode of Action , Applications , Molecular Biology , and Epidemiology of Bacterial Resistance Tetracycline Antibiotics : Mode of Action , Applications , Molecular Biology , and Epidemiology of Bacterial Resistance, 65(2). <http://doi.org/10.1128/MMBR.65.2.232>
- Cogliani, C., Goossens, H., & Greko, C. (2011). Restricting Antimicrobial Use in Food Animals: Lessons from Europe. *Microbe*, 6(6), 274-279.
- Conole, D., & Keating, G. M. (2014). Colistimethate sodium dry powder for inhalation: A review of its use in the treatment of chronic pseudomonas aeruginosa infection in patients with cystic fibrosis. *Drugs*, 74(3), 377-387. <http://doi.org/10.1007/s40265-014-0181-0>
- Consejo de las Comunidades Europeas. Directiva 90/167/CEE (1990).
- Cottarel, G., & Wierzbowski, J. (2007). Combination drugs, an emerging option for antibacterial therapy. *Trends in Biotechnology*, 25(12), 547-555. <http://doi.org/10.1016/j.tibtech.2007.09.004>
- Cox, L. A. T., & Popken, D. a. (2010). Assessing potential human health hazards and benefits from subtherapeutic antibiotics in the United States: tetracyclines as a case study. *Risk analysis : an official publication of the Society for Risk Analysis*, 30(3), 432-57. <http://doi.org/10.1111/j.1539-6924.2009.01340.x>
- Craig, W. (1998). Pharmacokinetic/pharmacodynamic parameters: rationale for antibacterial dosing of mice and men. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 26(1), 1-10-12. <http://doi.org/10.1086/516284>
- Craig, W. (2003). Lectures A ppropriate use of Antimicrobial Agents : PK / PD Approach, 132-134.
- Cunha, B. A., & Mattoes, H. M. (2002). Tetracycline pharmacodynamics. En A. P. Nightingale CH, Murakawa T (Ed.), *Antimicrobial pharmacodynamics in theory and clinical practice* (pp. 247-57). New York: New York, U.S.A., Marcel Dekker Inc.
- Cunha, T. J., Burnside, J. E., Meadows, G. B., Edwards, H. M., Benson, R. H., Pearson, A. M., & Glasscock, R. S. (1950). Effect of APF supplement on efficiency of feed utilization for the pig. *Journal of animal science*, 9(4), 615-618.
- Daemmrich, A. (2002). A Tale of Two Experts : Thalidomide and Political Engagement in the United States and West Germany, 15(1), 137-158.
- De Briyne, N., Atkinson, J., Pokludová, L., & Borriello, S. P. (2014). Antibiotics used most commonly to treat animals in Europe. *The Veterinary record*, 175(13), 325. <http://doi.org/10.1136/vr.102462>
- De Briyne, N., Atkinson, J., Pokludová, L., Borriello, S. P., & Price, S. (2013). Factors influencing antibiotic prescribing habits and use of sensitivity testing amongst veterinarians in Europe. *The Veterinary record*, 173, 475. <http://doi.org/10.1136/vr.101454>
- del Castillo, J. R. (2000). *Pharmacocinétique et pharmacodynamie des tétracyclines administrées via l'aliment chez le porc*. National Library of Canada.

- del Castillo, J. R. (2005). Votre moulée reçoit bien ses antibiotiques , vos porcs aussi ? En *Colloque sur la production porcine. Centre de Référence en Agriculture et Agroalimentaire du Québec*.
- del Castillo, J. R. (2013). Manejo del comedero y del bebedero en la dosificación de antibióticos en Porcinos. En *VI Congreso de Producción Porcina del Mercosur, XI Congreso Nacional de Producción Porcina (XI CNPP), XVII Jornadas de Actualización Porcina (XVII JAP)*.
- del Castillo, J. R. (2013). Tetracyclines. En J. F. P. and P. M. D. Steeve Giguère (Ed.), *Antimicrobial therapy in veterinary medicine* (Fifth, pp. 257-268). John Wiley & Sons, Inc. Published. [http://doi.org/10.1016/0007-1935\(89\)90107-3](http://doi.org/10.1016/0007-1935(89)90107-3)
- del Castillo, J. R., Beauchamp, G., Martineau, G. P., & Besner, J.-G. G. (2002). Short-term effects of in-feed supplementation of tetracyclines for disease control on feed intake pattern and growth in weaned pigs. *Livestock Production Science*, 76(1-2), 115-124. [http://doi.org/10.1016/S0301-6226\(02\)00011-8](http://doi.org/10.1016/S0301-6226(02)00011-8)
- del Castillo, J. R., Laroute, V., Pommier, P., Zémirline, C., Keïta, A., Concordet, D., & Toutain, P. L. (2006). Interindividual variability in plasma concentrations after systemic ... *Journal of Animal Science*, 84, 3155-166.
- del Castillo, J. R., & Wolff, T. (2006). Therapeutic lung exposure to feed-administered chlortetracycline is premix brand dependent. En *American Association Of Swine Veterinarians* (pp. 143-148). Marcel Dekker Inc.
- Del Pozo Sacristán, R., Rodríguez, a L., Sierens, a, Vranckx, K., Boyen, F., Dereu, a, ... Maes, D. G. D. (2012). Efficacy of in-feed medication with chlortetracycline in a farrow-to-finish herd against a clinical outbreak of respiratory disease in fattening pigs. *The Veterinary record*, 171(25), 645. <http://doi.org/10.1136/vr.100976>
- Delsol, A. A., Anjum, M., Woodward, M. J., Sunderland, J., & Roe, J. M. (2003). The effect of chlortetracycline treatment and its subsequent withdrawal on multi-resistant *Salmonella enterica* serovar Typhimurium DT104 and commensal *Escherichia coli* in the pig. *Journal of applied microbiology*, 95, 1226-1234. <http://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2003.02088.x>
- Duijkeren, E. Van, Ikawaty, R., Broekhuizen-Stins, M. J., van Duijkeren, E., Ikawaty, R., Broekhuizen-Stins, M. J., ... Fluit, a. C. (2008). Transmission of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains between different kinds of pig farms. *Veterinary microbiology*, 126(4), 383-389. <http://doi.org/10.1016/j.vetmic.2007.07.021>
- Dukes, G. (2006). Sources of Standards Specific to the Pharmaceutical Industry. *The Law and Ethics of the Pharmaceutical Industry*, 85-133.
- Dunlop, R. H., McEwen, S. a., Meek, A. H., Friendship, R. a., Clarke, R. C., & Black, W. D. (1998). Antimicrobial drug use and related management practices among Ontario swine producers. *Canadian Veterinary Journal*, 39(3), 87-96.
- ECDC (2013). *Antimicrobial Resistance Surveillance in Europe: Annual Report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net), 2012*.
- ECDC/EFSA/EMA. (2015). *ECDC / EFSA / EMA first joint report on the integrated analysis of the consumption of antimicrobial agents and occurrence of antimicrobial resistance in bacteria from humans and food-producing animals 1 Joint Interagency Antimicrobial Consumption and Resi* (Vol. 13).

- ECDC/EMEA. (2009). *ECDC/EMEA Joint technical report. The bacterial challenge: Time to react.*
- Errecalde, J. O., & Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2004). *Uso de antimicrobianos en animales de consumo: incidencia del desarrollo de resistencias en salud pública.* Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación.
- España. Real Decreto 1409 / 2009 , de 4 de septiembre , por el que se regula la elaboración , comercialización , uso y control de los piensos TEXTO CONSOLIDADO (2009).
- España. Real Decreto Legislativo 1/2015, de 24 de julio, por el que se aprueba el texto refundido de la Ley de garantías y uso racional de los medicamentos y productos sanitarios (2015).
- European Medicines Agency. EMEA/CVMP/83804/2005 Guideline on pharmaceutical fixed combination products (2006).
- European Medicines Agency. (2011a). *EMA/CVMP/SAGAM/741087/2009: Reflection paper on the use of macrolides , lincosamides and streptogramins ( MLS ) in food-producing animals in the European Union : development of resistance and impact on human and animal health Reflection paper on the use o.*
- European Medicines Agency. (2011b). *Trends in the sales of veterinary antimicrobial agents in nine European countries.*
- European Medicines Agency. (2013a). *EMA/755938/2012. Use of colistin products in animals within the European Union : development of resistance and possible impact on human and animal health. Use of colistin products in animals within the European Union : development of resistance and possibl.*
- European Medicines Agency. (2013b). *Sales of veterinary antimicrobial agents in 25 EU / EEA countries in 2011. Third ESVAC report.*
- European Medicines Agency. (2015). *Sales of veterinary antimicrobial agents in 26 EU / EEA countries in 2013 Fifth ESVAC report.*
- European Medicines Agency. (2016). *Draft ESVAC Vision and Strategy 2016-2020 ESVAC Vision and Strategy 2016-2020.*
- FAO. (2003). *Development of a Framework for Good Agricultural Practices.*
- FAO. (2011). *Antibiotics in animal farming: Public health and animal welfare.*
- FCEC (Food Chain Evaluation Consortium). (2010). *Evaluation of the EU Legislative Framework in the Field of Medicated Feed Final Report.*
- FEFAC. (2015). *Compound Feed Production (1989-2015) - Statistics - FEFAC Publications.* Recuperado a partir de <http://www.fefac.eu/publications.aspx?CategoryID=2061&EntryID=10802>
- Generalitat de Catalunya. (2012a). *Informe anual de l'Observatori del Porcí: A – 1 Anàlisi d' estructura : evolució en l' espai i el temps.*
- Generalitat de Catalunya. (2012b). *Informe anual de l'Observatori del Porcí: A - 3 Producció i mercat de matèries primeres per a l' alimentació animal.*

- Generalitat de Catalunya. (2012c). Materies primeres utilitzades en l'elaboració de pinso 2012.
- Generalitat de Catalunya. (2013). La vigilància i el control de medicaments veterinaris i els seus residus en animals i aliments d'origen animal a Catalunya.
- Giguère, S. (2013). Macrolides, Azalides an Ketolides. En S. Giguère, J. F. Prescott, & P. M. Dowling (Eds.), *Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine* (Fifth, pp. 211-231). John Wiley & Sons, Inc. Published. <http://doi.org/10.1007/978-1-61779-213-7>
- Godoy, C. (2007). *Optimización de pautas posológicas mediante análisis PK/PD en porcino: Evaluación de la eficacia de amoxicilina en un modelo de infección natural del tracto respiratorio*. Universitat Autònoma de Barcelona.
- Goodman, L. S., Gilman, A., Brunton, L. L., Lazo, J. S., & Parker, K. L. (2006). *Goodman & Gilman's the pharmacological basis of therapeutics*. (McGraw-Hill, Ed.) *Journal of Chemical Information and Modeling* (Vol. 53). New York. <http://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Guardabassi, L., & Kruse, H. (2009). Principles of Prudent and Rational Use of Antimicrobials in Animals. En *Guide to Antimicrobial Use in Animals* (pp. 1-12). Oxford, UK: Blackwell Publishing, Ltd. <http://doi.org/10.1002/9781444302639.ch1>
- Gullberg, E., Cao, S., Berg, O. G., Ilbäck, C., Sandegren, L., Hughes, D., & Andersson, D. I. (2011). Selection of resistant bacteria at very low antibiotic concentrations. *PLoS Pathogens*, 7(7), 1-9. <http://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002158>
- Gutiérrez-Martín, C. B., García del Blanco, N., Blanco, M., Navas, J., & Rodríguez-Ferri, E. F. (2006). Changes in antimicrobial susceptibility of *Actinobacillus pleuropneumoniae* isolated from pigs in Spain during the last decade. *Veterinary microbiology*, 115(1-3), 218-222. <http://doi.org/10.1016/j.vetmic.2005.12.014>
- Guyonnet, J., Manco, B., Baduel, L., Kaltsatos, V., Aliabadi, M. H. F. S., & Lees, P. (2010). Determination of a dosage regimen of colistin by pharmacokinetic/pharmacodynamic integration and modeling for treatment of G.I.T. disease in pigs. *Research in Veterinary Science*, 88(2), 307-314. <http://doi.org/10.1016/j.rvsc.2009.09.001>
- Hannan, P. C. T., Windsor, G. D., de Jong, A., Schmeer, N., & Stegemann, M. (1997). Comparative Susceptibilities of Various Animal-Pathogenic Mycoplasmas to Fluoroquinolones. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 41(9), 2037-2040.
- He, J., Tang, S., Li, L., Zhang, C., Li, X., Xia, X., & Xiao, X. (2010). Pharmacokinetics of a novel amoxicillin/colistin suspension after intramuscular administration in pigs. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 34(1), 42-50. <http://doi.org/10.1111/j.1365-2885.2010.01191.x>
- Hegreness, M., Shores, N., Damian, D., Hartl, D., & Kishony, R. (2008). Accelerated evolution of resistance in multidrug environments. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(37), 13977-13981. <http://doi.org/10.1073/pnas.0805965105>
- Hidalgo, Á., Carvajal, A., García-Feliz, C., Osorio, J., & Rubio, P. (2009). Antimicrobial susceptibility testing of Spanish field isolates of *Brachyspira hyodysenteriae*. *Research in Veterinary Science*, 87(1), 7-12. <http://doi.org/10.1016/j.rvsc.2008.10.017>

- Hughes, P., & Heritage, J. (2004). Antibiotic growth - promoters in food animals -. En *Assesing Quality and safety of animal feeds. FAO. Food animal production and health paper* (pp. 129-52). Rome.
- Hunter, R. P., Lees, P., Concordet, D., & Toutain, P. L. (2012). Establishing bioequivalence of veterinary premixes (Type A medicated articles). *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 35(SUPPL. 1), 53-63. <http://doi.org/10.1111/j.1365-2885.2012.01368.x>
- Jacobs, M. R. (2003). How can we predict bacterial eradication? *International journal of infectious diseases: IJID: official publication of the International Society for Infectious Diseases*, 7 Suppl 1(Table 1), S13-20. [http://doi.org/10.1016/S1201-9712\(03\)90066-X](http://doi.org/10.1016/S1201-9712(03)90066-X)
- Jensen, L. B., Angulo, F. J., Mølbak, K., & Wegener, H. C. (2009). Human Health Risks Associated with Antimicrobial Use in Animals. En *Guide to Antimicrobial Use in Animals* (pp. 13-26). Oxford, UK: Blackwell Publishing, Ltd. <http://doi.org/10.1002/9781444302639.ch2>
- Jensen, V. F., Emborg, H. D., & Aarestrup, F. M. (2011). Indications and patterns of therapeutic use of antimicrobial agents in the Danish pig production from 2002 to 2008. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 35, 33-46. <http://doi.org/10.1111/j.1365-2885.2011.01291.x>
- Jurado Rabadán, S. (2013). *Análisis de resistencias a antimicrobianos en aislados de Escherichia coli procedentes de cerdos tratados por vía oral con diferentes dosis de colistina*. Universidad Complutense de Madrid.
- Kahlmeter, G., Brown, D. F. J., Goldstein, F. W., MacGowan, A. P., Mouton, J. W., Österlund, A., ... Vatopoulos, A. (2003). European harmonization of MIC breakpoints for antimicrobial susceptibility testing of bacteria. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 52(2), 145-148. <http://doi.org/10.1093/jac/dkg312>
- Kempf, I., Fleury, M. A., Drider, D., Bruneau, M., Sanders, P., Chauvin, C., ... Jouy, E. (2013). What do we know about resistance to colistin in Enterobacteriaceae in avian and pig production in Europe? *International Journal of Antimicrobial Agents*, 42(5), 379-383. <http://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2013.06.012>
- Kilroy, C. R., Hall, W. F., Bane, D. P., Beville, R. F., & Koritz, G. D. (1990). Chlortetracycline in swine--bioavailability and pharmacokinetics in fasted and fed pigs. *Journal of veterinary pharmacology and therapeutics*, 13(1), 49-58.
- Landman, D., Georgescu, C., Martin, D. A., & Quale, J. (2008). Polymyxins revisited. *Clinical microbiology reviews*, 21(3), 449-65. <http://doi.org/10.1128/CMR.00006-08>
- Lees, P., Cunningham, F. M., & Elliott, J. (2004). Principles of pharmacodynamics and their applications in veterinary pharmacology. *Journal of veterinary pharmacology and therapeutics*, 27(6), 397-414.
- Lees, P., Svendsen, O., & Wiuff, C. (2009). Strategies to Minimise the Impact of Antimicrobial Treatment on the Selection of Resistant Bacteria. En *Guide to Antimicrobial Use in Animals* (pp. 77-101). Oxford, UK: Blackwell Publishing, Ltd. <http://doi.org/10.1002/9781444302639.ch6>
- Lewicki, J. (2006). Tylosin A review of pharmacokinetics, residues in food animals and analytical methods. Food and Agriculture Organization of the United Nations.

- Li, J., Petit-Jetté, C. E., Gohore Bi, D., Fenneteau, F., del Castillo, J. R. E., & Nekka, F. (2008). Assessing pharmacokinetic variability directly induced by drug intake behaviour through development of a feeding behaviour-pharmacokinetic model. *Journal of Theoretical Biology*, 251(3), 468-479. <http://doi.org/10.1016/j.jtbi.2007.11.033>
- Liu, Y. Y., Wang, Y., Walsh, T. R., Yi, L. X., Zhang, R., Spencer, J., ... Shen, J. (2016). Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: A microbiological and molecular biological study. *The Lancet Infectious Diseases*, 16(2), 161-168. [http://doi.org/10.1016/S1473-3099\(15\)00424-7](http://doi.org/10.1016/S1473-3099(15)00424-7)
- Looft, T., Johnson, T. A., Allen, H. K., Bayles, D. O., Alt, D. P., Stedtfeld, R. D., ... Stanton, T. B. (2012). In-feed antibiotic effects on the swine intestinal microbiome. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A*, 109(1091-6490 (Electronic)), 1691-1696. <http://doi.org/10.1073/pnas.1120238109>
- Love, D. C., Davis, M. F., Bassett, A., Gunther, A., & Nachman, K. E. (2011). Dose imprecision and resistance: free-choice medicated feeds in industrial food animal production in the United States. *Environmental health perspectives*, 119(3), 279-83. <http://doi.org/10.1289/ehp.1002625>
- Luecke R.W., M. W. N. and T. F. (1950). Effect of vitamin B12, animal protein factor and streptomycin on the growth of young pigs. *Archives of biochemistry*, 26(2), 326-7.
- Ma, H., Wu, T., Xiao, F., Gao, H., & Qiu, Y. (2009). In Vitro Antibacterial Activity of Amoxicillin Combination with Colistin Sulfate against Escherichia coil and Salmonella from Pig and Chicken. *Chinese Journal of Veterinary Drug*.
- Maaland, M. G., Papich, M. G., Turnidge, J., & Guardabassi, L. (2013). Pharmacodynamics of doxycycline and tetracycline against staphylococcus pseudintermedius: Proposal of canine-specific breakpoints for doxycycline. *Journal of Clinical Microbiology*, 51(11), 3547-3554. <http://doi.org/10.1128/JCM.01498-13>
- Maddison, J. E. (2003). Rational antimicrobial therapy. En *World Small Animal Veterinary Association*.
- Mankin, A. S. (2008). Macrolide myths. *Current Opinion in Microbiology*, 11(5), 414-421. <http://doi.org/10.1016/j.mib.2008.08.003>
- Martín de la Fuente, A. J., Tucker, A. W., Navas, J., Blanco, M., Morris, S. J., & Gutierrez-Martin, C. B. (2007). Antimicrobial susceptibility patterns of Haemophilus parasuis from pigs in the United Kingdom and Spain. *Vet Microbiol*, 120(1-2), 184-191. <http://doi.org/10.1016/j.vetmic.2006.10.014>
- Martinez, M. N., Toutain, P., & Turnidge, J. (2013). The Pharmacodynamics of Antimicrobial Agents. *Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine*, 79-103. <http://doi.org/10.1002/9781118675014.ch5>
- Martini Pulz, L. (2006). *The importance of the supplementation of Zinc in nursery pig diets*. University of Missouri-Columbia.
- McGuire, J.M.; Boniece, W.S.; Higgins, C.E.; Hoehn, M.M.; Stark, W.M.; Westhead, J.; Wolfe, R. N. (1961). Tylosin, a New Antibiotic: I. Microbiological Studies. *Antibiotics & Chemotherapy*, 11(5), 320-27.

- McKellar, Q. a., Sanchez Bruni, S. F., & Jones, D. G. (2004). Pharmacokinetic/pharmacodynamic relationships of antimicrobial drugs used in veterinary medicine. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 27(6), 503-514. <http://doi.org/10.1111/j.1365-2885.2004.00603.x>
- Medardus, J. J., Molla, B. Z., Nicol, M., Morrow, W. M., Rajala-Schultz, P. J., Kazwala, R., & Gebreyes, W. a. (2014). In-feed use of heavy metal micronutrients in U.S. swine production systems and its role in persistence of multidrug-resistant salmonellae. *Applied and Environmental Microbiology*, 80(7), 2317-2325. <http://doi.org/10.1128/AEM.04283-13>
- Medel, P. (2013). Problemática de la contaminación cruzada en la fabricación de piensos .
- Merle, R., Hajek, P., Käsbohrer, A., Hegger-Gravenhorst, C., Mollenhauer, Y., Robanus, M., ... Kreienbrock, L. (2012). Monitoring of antibiotic consumption in livestock: A German feasibility study. *Preventive Veterinary Medicine*, 104(1-2), 34-43. <http://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2011.10.013>
- Mesa, R. J., Blanc, V., Blanch, A. R., Cortés, P., González, J. J., Lavilla, S., ... Navarro, F. (2006). Extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing Enterobacteriaceae in different environments (humans, food, animal farms and sewage). *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 58(May), 211-215. <http://doi.org/10.1093/jac/dkl211>
- Michel, J.-B., Yeh, P. J., Chait, R., Moellering, R. C., & Kishony, R. (2008). Drug interactions modulate the potential for evolution of resistance. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(39), 14918-14923. <http://doi.org/10.1073/pnas.0800944105>
- Mills, J., Apley, M., Dau, D., & Bustamante, A. (2008). In-Vitro antimicrobial activity of tiamulin and chlortetracycline against field swine pathogens. *Scientific Publications, Denagard 20th IPVS CONGRESS*.
- Ministerio de Sanidad, S. S. e I. (2015). Nota de Prensa del 9 de Julio : Alfonso Alonso destaca la relevancia del Plan Nacional de Resistencia a los Antibióticos para evitar el abuso y el uso inadecuado.
- Mølbak, K. (2004). Spread of resistant bacteria and resistance genes from animals to humans--the public health consequences. *Journal of veterinary medicine. B, Infectious diseases and veterinary public health*, 51(8-9), 364-369. <http://doi.org/10.1111/j.1439-0450.2004.00788.x>
- Moodley, A., Nielsen, S. S., & Guardabassi, L. (2011). Effects of tetracycline and zinc on selection of methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) sequence type 398 in pigs. *Veterinary microbiology*, 152(3-4), 420-3. <http://doi.org/10.1016/j.vetmic.2011.05.025>
- Moore PR, Evenson A, Luckey TD, McCoy E, Elvehjem CA, H. E. (1946). Use of sulfasuxidine, streptothricin, and streptomycin in nutritional studies with the chick. *The Journal of biological chemistry*, 165(2), 437-41.
- Moreno, M. A. (2014). Survey of quantitative antimicrobial consumption per production stage in farrow-to-finish pig farms in Spain. *Veterinary Record Open*, 1(e000002), 1-22. <http://doi.org/10.1136/vropen-2013-000002>
- Mouton, J. W. (1999). Combination therapy as a tool to prevent emergence of bacterial resistance. *Infection*, 27 Suppl 2, S24-S28. <http://doi.org/10.1007/BF02561666>

- Nation, R. L., Li, J., Cars, O., Couet, W., Dudley, M. N., Kaye, K. S., ... Turnidge, J. D. (2015). Framework for optimisation of the clinical use of colistin and polymyxin B: the Prato polymyxin consensus. *The Lancet Infectious Diseases*, 15(2), 225-234. [http://doi.org/10.1016/S1473-3099\(14\)70850-3](http://doi.org/10.1016/S1473-3099(14)70850-3)
- Nelson, M. L., & Levy, S. B. (2011). The history of the tetracyclines. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1241(1), 17-32. <http://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2011.06354.x>
- Nielsen, P., & Gyrd-Hansen, N. (1996). Bioavailability of oxytetracycline, tetracycline and chlortetracycline after oral administration to fed and fasted pigs. *Journal of veterinary pharmacology and therapeutics*, 19(4), 305-11.
- Niewold, T. A. (2007). INVITED REVIEW The Nonantibiotic Anti-Inflammatory Effect of Antimicrobial Growth Promoters, the Real Mode of Action? A Hypothesis. *Poultry Science*, 86, 605-609.
- Nyachoti, C. M., Zijlstra, R. T., de Lange, C. F. M., & Patience, J. F. (2004). Voluntary feed intake in growing-finishing pigs: A review of the main determining factors and potential approaches for accurate predictions. *Canadian Journal of Animal Science*, 84(4), 549-566. <http://doi.org/10.4141/A04-001>
- Papich, M. G. (2001). Current Concepts in Antimicrobial Therapy for Horses. *Proceedings of the 47th Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners*, 47, 94-102.
- Pazos Morán, D., & Fernández Poza, M. del M. (2015). *Estudio de impacto sobre el sector ganadero español y comunitario del acuerdo de Asociación Transatlántica de Comercio e Inversión (Transatlantic Trade and Investment Partnership –TTIP-) entre Estados Unidos y la Unión Europea*.
- Petersen, a., Stegger, M., Heltberg, O., Christensen, J., Zeuthen, a., Knudsen, L. K., ... Larsen, a. R. (2013). Epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carrying the novel *mecC* gene in Denmark corroborates a zoonotic reservoir with transmission to humans. *Clinical Microbiology and Infection*, 19(1). <http://doi.org/10.1111/1469-0691.12036>
- Pijpers, a., Schoevers, E. J., Haagsma, N., & Verheijden, J. H. (1991). Plasma levels of oxytetracycline, doxycycline, and minocycline in pigs after oral administration in feed. *Journal of animal science*, 69(11), 4512-4522.
- Prats, C., El Korchi, G., Francesch, R., Arboix, M., & Pérez, B. (2002). Disposition kinetics of tylosin administered intravenously and intramuscularly to pigs. *Research in Veterinary Science*, 73(2), 141-144. [http://doi.org/10.1016/S0034-5288\(02\)00036-X](http://doi.org/10.1016/S0034-5288(02)00036-X)
- Prim, N., Rivera, A., Rodríguez-Navarro, J., Español, M., Turbau, M., Coll, P., & Mirelis, B. (2016). Detection of *mcr-1* colistin resistance gene in polyclonal *Escherichia coli* isolates in Barcelona, Spain, 2012 to 2015. *Eurosurveillance*, 21(13), 11-13. <http://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2016.21.13.30183>
- Pyörälä, S., Baptiste, K. E., Catry, B., van Duijkeren, E., Greko, C., Moreno, M. a., ... Törneke, K. (2014). Macrolides and lincosamides in cattle and pigs: Use and development of antimicrobial resistance. *Veterinary Journal*, 200(2), 230-239. <http://doi.org/10.1016/j.tvjl.2014.02.028>



- Rajić, A., Reid-Smith, R., Deckert, A. E., Dewey, C. E., & McEwen, S. a. (2006). Reported antibiotic use in 90 swine farms in Alberta. *Canadian Veterinary Journal*, 47(May), 446-452.
- Reeves, P. T. (2011). Antibiotics: Groups and Properties. En *Chemical Analysis of Antibiotic Residues in Food*. inbook.
- Rosell, C., & Segalés, J. (2002). Diagnóstico y control de las principales patologías respiratorias y sistémicas de los cerdos en fase de transición. En *IV Jornadas Técnicas de Porcino NANTA*.
- Roura, E. (2012). El gusto en el cerdo (parte IV): amargo. Recuperado a partir de [https://www.3tres3.com/nutricion/el-gusto-en-el-cerdo-parte-iv-amargo\\_31083/](https://www.3tres3.com/nutricion/el-gusto-en-el-cerdo-parte-iv-amargo_31083/)
- Rubin, J. E. (2013). Antimicrobial Susceptibility Testing Methods and Interpretation of Results. En J. F. P. and P. M. D. Steeve Giguère (Ed.), *Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine* (Fifth Edit, pp. 11-20). John Wiley & Sons, Inc. Published. <http://doi.org/10.1002/9781118675014.ch2>
- San Millan, A., Escudero, J. A., Catalan, A., Nieto, S., Farelo, F., Gibert, M., ... Gonzalez-Zorn, B. (2007). Beta-lactam resistance in *Haemophilus parasuis* Is mediated by plasmid pB1000 bearing blaROB-1. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 51(6), 2260-4. <http://doi.org/10.1128/AAC.00242-07>
- Sandberg, F. B., Emmans, G. C., & Kyriazakis, I. (2006). A model for predicting feed intake of growing animals during exposure to pathogens. *Journal of Animal Science*, 84(6), 1552-1566.
- Sauer, F., & Hankin, R. (1987). Rules Governing Pharmaceuticals in the European Community. *The Journal of Clinical Pharmacology*, 27(9), 639-646. <http://doi.org/10.1002/j.1552-4604.1987.tb03081.x>
- Schwarz, S., Kehrenberg, C., & Walsh, T. R. (2001). Use of antimicrobial agents in veterinary medicine and food animal production. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 17(6), 431-437. [http://doi.org/10.1016/S0924-8579\(01\)00297-7](http://doi.org/10.1016/S0924-8579(01)00297-7)
- SIP Consultors. (2014). *Informe SIP-InterPIG 2014 Costes de producción y resultado económico comparados*.
- Smith, W. J. (1993). Antibiotics in feed, with special reference to pigs: a veterinary viewpoint. *Animal Feed Science and Technology*, 45, 57-64. [http://doi.org/10.1016/0377-8401\(93\)90071-Q](http://doi.org/10.1016/0377-8401(93)90071-Q)
- Soldevila Lafon, V. (2008). El impacto medioambiental de las explotaciones porcinas en Catalunya desde una perspectiva de filière. En *XI Jornadas de Economía Crítica*.
- Soldevila Lafon, V., & Viladomiu, L. (2013). INNOVACIÓ ORGANITZATIVA: ELS CONTRACTES D'INTEGRACIÓ A LA RAMADERIA INTENSIVA CATALANA, 16, 157-166. <http://doi.org/10.2436/20.1503.02.56>
- Soraci, A. L., Amanto, F., Tapia, M. O., de la Torre, E., & Toutain, P. L. (2014). Exposure variability of fosfomycin administered to pigs in food or water: Impact of social rank. *Research in Veterinary Science*, 96(1), 153-159. <http://doi.org/10.1016/j.rvsc.2013.12.003>

- Soulsby, Lord. (2008). The 2008 Garrod Lecture: antimicrobial resistance--animals and the environment. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, 62(2), 229-33. <http://doi.org/10.1093/jac/dkn183>
- SRU. (2007). Arzneimittel in der Umwelt (medicamentos en el medio ambiente).
- Stevens, K. B., Gilbert, J., Strachan, W. D., Robertson, J., Johnston, a M., & Pfeiffer, D. U. (2007). Characteristics of commercial pig farms in Great Britain and their use of antimicrobials. *The Veterinary record*, 161, 45-52. <http://doi.org/10.1136/vr.161.2.45>
- Stokstad, ; R, Jukes, T. H., Pierce, J., & Page, A. C. (1949). The multiple nature of the animal protein factor. *J. Biol. Chem.*, 180, 647-54.
- Stuart, A. D., Brown, T. D. K., & Tasker, J. B. (2007). Intra-cellular accumulation and trans-epithelial transport of Aivlosin, Tylosin and Tilmicosin. *The Pig Journal*, 60, 26-35.
- Thacker, P. A. (2013). Alternatives to antibiotics as growth promoters for use in swine production: a review. *Journal of animal science and biotechnology*, 4(1), 35. <http://doi.org/10.1186/2049-1891-4-35>
- Thongkamkoon, P., Narongsak, W., Kobayashi, H., Pathanasophon, P., Kishima, M., & Yamamoto, K. (2013). In Vitro Susceptibility of Mycoplasma hyopneumoniae Field Isolates and Occurrence of Fluoroquinolone, Macrolides and Lincomycin Resistance. *Journal of Veterinary Medical Science*, 75(8), 1067-1070. <http://doi.org/10.1292/jvms.12-0520>
- Timmerman, T., Dewulf, J., Catry, B., Feyen, B., Opsomer, G., Kruif, A. De, & Maes, D. (2006). Quantification and evaluation of antimicrobial drug use in group treatments for fattening pigs in Belgium. *Preventive Veterinary Medicine*, 74, 251-263. <http://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2005.10.003>
- Toutain, P. ., del Castillo, J. R. ., & Bousquet-Mélou, A. (2002). The pharmacokinetic–pharmacodynamic approach to a rational dosage regimen for antibiotics. *Research in Veterinary Science*, 73(2), 105-114. [http://doi.org/10.1016/S0034-5288\(02\)00039-5](http://doi.org/10.1016/S0034-5288(02)00039-5)
- Trauffer, M., Griesbacher, a., Fuchs, K., & Kofer, J. (2014). Antimicrobial drug use in Austrian pig farms: plausibility check of electronic on-farm records and estimation of consumption. *Veterinary Record*, vetrec-2014-102520. <http://doi.org/10.1136/vr.102520>
- U.S. Government Accountability Office. (2011). *Antibiotic Resistance: Agencies Have Made Limited Progress Addressing Antibiotic Use in Animals*.
- Ungemach, F. R., Müller-Bahrtdt, D., & Abraham, G. (2006). Guidelines for prudent use of antimicrobials and their implications on antibiotic usage in veterinary medicine. *International journal of medical microbiology: IJMM*, 296 Suppl, 33-38. <http://doi.org/10.1016/j.ijmm.2006.01.059>
- Unión Europea. (2001). DIRECTIVA 2001/82/C DEL PARLAMENTO EUROPEO Y DEL CONSEJO de 6 de noviembre de 2001 por la que se establece un código comunitario sobre medicamentos veterinarios.
- Unión Europea. (2004). REGLAMENTO (CE) No 726/2004 DEL PARLAMENTO EUROPEO Y DEL CONSEJO de 31 de marzo de 2004 por el que se establecen procedimientos comunitarios para la autorización y el control de los medicamentos de uso humano y veterinario y por el que se crea la Agencia.

- Unión Europea. REGLAMENTO (CE) No 183/2005 DEL PARLAMENTO EUROPEO Y DEL CONSEJO de 12 de enero de 2005 por el que se fijan requisitos en materia de higiene de los piensos (2005).
- Unión Europea. REGLAMENTO (CE) N o 470/2009 DEL PARLAMENTO EUROPEO Y DEL CONSEJO de 6 de mayo de 2009 por el que se establecen procedimientos comunitarios para la fijación de los límites de residuos de las sustancias farmacológicamente activas en los alimentos de origen (2009).
- Unión Europea. COMMISSION REGULATION (EU) No 37/2010 of 22 December 2009 on pharmacologically active substances and their classification regarding maximum residue limits in foodstuffs of animal origin (2010).
- Unión Europea. COM(2011) 748 final COMMUNICATION FROM THE COMMISSION TO THE EUROPEAN PARLIAMENT AND THE COUNCIL Action plan against the rising threats from Antimicrobial Resistance (2011).
- Unión Europea. DECISIÓN DE EJECUCIÓN DE LA COMISIÓN de 12 de noviembre de 2013 sobre el seguimiento y la notificación de la resistencia de las bacterias zoonóticas y comensales a los antibióticos (2013).
- Unión Europea. C(2014) 5627 final COMMISSION IMPLEMENTING DECISION of 31.7.2014 concerning, in the framework of Article 35 of Directive 2001/82/EC of the European Parliament and of the Council, the marketing authorisations for veterinary medicinal products containing “Tylosin” to be administered orally via feed or the drinking water to pigs (2014).
- Unión Europea. COM(2014) 557 final Propuesta de REGLAMENTO DEL PARLAMENTO EUROPEO Y DEL CONSEJO que modifica Reglamento (CE) n° 726/2004, por el que se establecen procedimientos comunitarios para la autorización y el control de los medicamentos de uso humano y veterinario (2014).
- Unión Europea. COM(2014) 558 final Propuesta de REGLAMENTO DEL PARLAMENTO EUROPEO Y DEL CONSEJO sobre los medicamentos veterinarios (2014).
- Unión Europea. COM(2014) 556 final Propuesta de REGLAMENTO DEL PARLAMENTO EUROPEO Y DEL CONSEJO relativo a la fabricación, la comercialización y el uso de piensos medicamentosos y por el que se deroga la Directiva 90/167/CEE del Consejo (2014).
- Unión Europea. COM(2014) 558 final/2 Propuesta de REGLAMENTO DEL PARLAMENTO EUROPEO Y DEL CONSEJO sobre los medicamentos veterinarios (2015).
- Unión Europea. Directrices para una utilización prudente de los antimicrobianos en la medicina veterinaria (2015/C299/04) (2015).
- USP. (2003). USP Veterinary Pharmaceutical Information Monographs – Antibiotics. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 26(october), 1-271.
- Vela, A. I., Moreno, M. a, Cebolla, J. a, González, S., Latre, M. V, Domínguez, L., & Fernández-Garayzábal, J. F. (2005). Antimicrobial susceptibility of clinical strains of *Streptococcus suis* isolated from pigs in Spain. *Veterinary microbiology*, 105(2), 143-7. <http://doi.org/10.1016/j.vetmic.2004.10.009>

- Vera Lizarazo, Y. A., Rodríguez Ferri, E. F., Martín de la Fuente, A. J., & Gutiérrez Martín, C. B. (2006). Evaluation of changes in antimicrobial susceptibility patterns of *Pasteurella multocida* subsp *multocida* isolates from pigs in Spain in 1987-1988 and 2003-2004. *American journal of veterinary research*, 67(4), 663-8. <http://doi.org/10.2460/ajvr.67.4.663>
- Veterinary Medicines Directorate. (2013). *UK Veterinary Antibiotic Resistance and Sales Surveillance 2013*.
- Vicca, J., Maes, D., Jonker, L., Kruif, A. De, & Haesebrouck, F. (2005). Efficacy of in-feed medication with tylosin for the treatment and control of *Mycoplasma hyopneumoniae* infections. *Veterinary Record*, 156(19), 606-610.
- Voss, A., Loeffen, F., Bakker, J., Klaassen, C., & Wulf, M. (2005). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Pig Farming. *Emerging Infectious Diseases*, 11(12), 1965-1966. <http://doi.org/10.3201/eid1112.050428>
- Wanner, M., Walker, W., Hm, S., JI, R., & Broz, J. (1991). Influence of dietary citric acid and calcium on the bioavailability of orally administered chlortetracycline in piglets . *PubMed Commons*, 38(10), 755-62.
- Wattanaphansak, S. (2009). *Lawsonia intracellularis* disease control and epidemiology. University of Minnesota.
- Wattanaphansak, S., Singer, R. S., & Gebhart, C. J. (2009). In vitro antimicrobial activity against 10 North American and European *Lawsonia intracellularis* isolates. *Veterinary microbiology*, 134(3-4), 305-10. <http://doi.org/10.1016/j.vetmic.2008.08.007>
- Williams, P. P. (1978). In Vitro Susceptibility of *Mycoplasma hyopneumoniae* and *Mycoplasma hyorhinis* to Fifty-One Antimicrobial Agents, 4(2), 210-213. <http://doi.org/10.1128/AAC.14.2.210.Updated>
- Wolff, T. (2003). Comparison of the in vitro MIC values for swine pathogens to chlortetracycline (CTC) and oxytetracycline (OTC) for 2000–2002. En *Proceedings, American Association of Swine Veterinarians* (p. 34:181-184).
- Woodward, K. N. (2005). *Preclinical safety testing and assessment of veterinary pharmaceuticals and pharmacovigilance*.
- Woodward, K. N. (2009). Veterinary pharmacovigilance in the European Union. En *Veterinary Pharmacovigilance: Adverse Reactions to Veterinary Medicinal Products* (pp. 19-46).
- World Health Organization. (2012). *Critically Important Antimicrobials for Human Medicine - 3rd Revision 2011*.
- Wu, C., & Wolff, T. (2000). Comparison of MIC values for chlortetracycline, oxytetracycline and tetracycline vs. swine field isolates of *Actinobacillus pleuropneumoniae* and *Pasteurella multocida*. En *16th International Pig Veterinary Society Congress*.
- Yahav, D., Farbman, L., Leibovici, L., & Paul, M. (2012). Colistin: New lessons on an old antibiotic. *Clinical Microbiology and Infection*, 18(1), 18-29. <http://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2011.03734.x>
- Yoshimura, H., Takagi, M., Ishimura, M., & Endoh, Y. S. (2002). Comparative in vitro activity of 16 antimicrobial agents against *Actinobacillus pleuropneumoniae*. *Veterinary research communications*, 26(1), 11-9.

## **8 APÉNDICES**

**APÉNDICE 1**  
**FORMULARIOS UTILIZADOS**

**Tabla 1.** Encuesta a empresas productoras de pienso

Fecha:

Código/Referencia	Descripción	Cantidad anual fabricada (kg)	Consumo de pienso por animal (kg)	Animales de destino	Premezclas medicamentosas (Principio Activo)	Dosificación en pienso (ppm)	Duración de los tratamientos
	Lactoiniciador			De 0 a 24(±4) días o de 1 a 6(±1) kg PV			
	Prestarter			De 24(±4) días a entre 31 y 42 días de vida o de 6(±1) kg hasta 8-11 kg PV			
	Starter			De 31-42 días a 60-70 días de vida o de 8-11 kg PV hasta 20 (±3) kg PV			
	Pre-cebo			animales de engorde (>20 kg PV)			
	Cerdas (blanqueo)			Cerdas en gestación			
Otros datos/Comentarios							

**Tabla 2.** Formulario de recogida de datos en explotaciones porcinas

Datos generales de la Explotación																									
Fecha Visita:	Localización:																								
Tipo de explotación (ciclo cerrado, engorde):																									
Capacidad total:	Capacidad por Nave:																								
Capacidad por corral:																									
Datos de los Animales																									
Raza:																									
Fecha de entrada:	Peso a la entrada (kg):																								
Datos del pienso medicamentoso																									
Tipo (ej. prestarter, starter, engorde, etc):	Tm Pienso recibido:																								
Harina/Granulado:																									
Fecha inicio de consumo de pienso medicamentoso:																									
Tratamientos en pienso (premezclas utilizadas)																									
<table border="1"> <thead> <tr> <th>Nombre Premezcla</th> <th>Principio Activo</th> <th>Dosificación (ppm)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr> <tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr> <tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr> <tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr> <tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr> <tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr> <tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr> </tbody> </table>		Nombre Premezcla	Principio Activo	Dosificación (ppm)																					
Nombre Premezcla	Principio Activo	Dosificación (ppm)																							
Agua																									
Abastecimiento de agua:																									
Tratamientos en agua (ej. acidificantes):																									
Tratamientos adicionales en agua o inyectables realizados a los animales (especificar también en el formulario individual de los animales)																									



**Tabla 3.** Formulario de recogida de datos de animales enfermos

Información General				
Nº Corral:	Nº Animal:			
Número de animales en el corral:				
Número de animales con sintomatología:				
Inicio de Sintomas:	Fecha inicio de consumo de pienso medicamentoso:			
Signos Clínicos				
Tos	Si <input type="text"/> No <input type="text"/>			
Tipo de Respiración <sup>a</sup>	<table border="1" style="display: inline-table;"><tr><td style="width: 30px; text-align: center;">1</td><td style="width: 30px; text-align: center;">2</td><td style="width: 30px; text-align: center;">3</td></tr></table>	1	2	3
1	2	3		
Secreción nasal	Serosa <input type="text"/> Purulenta <input type="text"/>			
Temperatura Rectal (°C)	<input type="text"/>			
Grado de actividad <sup>b</sup>	<table border="1" style="display: inline-table;"><tr><td style="width: 30px; text-align: center;">1</td><td style="width: 30px; text-align: center;">2</td><td style="width: 30px; text-align: center;">3</td></tr></table>	1	2	3
1	2	3		
Heces <sup>c</sup>	<table border="1" style="display: inline-table;"><tr><td style="width: 30px; text-align: center;">1</td><td style="width: 30px; text-align: center;">2</td><td style="width: 30px; text-align: center;">3</td></tr></table>	1	2	3
1	2	3		
Otras Observaciones/Indicar tratamientos por otras vías (agua o inyectables):				

<sup>a</sup> Tipo de Respiración	1: Normal	2: Disnea	3: Disnea severa
<sup>b</sup> Grado de actividad	1: Normal	2:Disminuida	3: Postrado
<sup>c</sup> Heces	1: Normal	2: Blandas	3: Diarrea

Tabla 4: Signos clínicos individuales de animales enfermos

Granja	Animal	Corral	Sexo	Tos	Tipo de Respiración	Secreción Nasal	Actividad Motora	Heces	T <sup>3</sup> Rectal	Aspecto General	Peso corporal (kg)
Artesa de Lleida	1	1	M	0	2	0	1	1	39	peludo y delgado, retraso en crecimiento	-
	2	1	M	0	1	0	1	1	39.8	retraso en crecimiento	-
	3	1	M	0	2	0	1	1	38.5	retraso en crecimiento	-
	4	1	M	0	1	0	1	1	39.3	retraso en crecimiento	-
	5	1	M	0	2	0	1	1	38.9	retraso en crecimiento	-
	6	1	M	0	2	0	1	1	37.9	retraso en crecimiento	-
	7	1	M	0	2	0	1	1	38.6	retraso en crecimiento	-
	8	18	M	1	2	0	1	1	39.6	retraso en crecimiento	-
	9	18	M	0	2	0	1	1	38.8	retraso en crecimiento	-
	10	18	M	0	1	0	1	1	39.5	retraso en crecimiento	-
	11	18	M	0	2	0	1	1	40.7	retraso en crecimiento	-
	12	18	M	0	2	0	1	1	40.3	retraso en crecimiento	-
	13	4	F	0	1	0	1	1	38.5	retraso en crecimiento	-
	14	4	M	0	2	0	1	1	39.9	retraso en crecimiento	-
	15	5	M	0	2	0	1	1	37.5	retraso en crecimiento	-
	16	1B	M	0	1	0	1	1	38.9	retraso en crecimiento	-
	17	1B	F	0	2	0	1	1	38.2	retraso en crecimiento	-
	18	1B	F	1	3	0	1	1	39.4	retraso en crecimiento	-
	19	1B	F	0	2	0	1	1	38.9	retraso en crecimiento	-
	20	1B	M	0	2	0	1	2	41.5	retraso en crecimiento	-
	21	1B	F	0	1	0	1	1	39.7	retraso en crecimiento	-
	22	1B	F	0	1	0	1	1	39.9	retraso en crecimiento	-
	23	1B	M	0	2	0	1	1	40.6	retraso en crecimiento	-
	24	1B	M	0	1	1	1	1	39.7	retraso en crecimiento	-
	25	1B	M	0	1	0	1	1	39.5	retraso en crecimiento, hernia umbilical	-
	26	1B	M	0	1	0	1	1	39.5	retraso en crecimiento	-
	27	16B	M	1	1	0	1	1	40.8	retraso en crecimiento	-
	28	16B	F	1	3	0	1	1	39.1	retraso en crecimiento	-
	29	16B	F	0	3	0	1	1	40.6	retraso en crecimiento	-
	30	16B	F	0	2	0	1	1	39.5	retraso en crecimiento	-
	31	16B	F	0	2	0	1	1	39.5	retraso en crecimiento	-
	32	16B	F	0	1	0	1	1	39.6	retraso en crecimiento	-
	33	16B	F	0	1	0	1	1	39.3	retraso en crecimiento	-
	34	16B	F	0	2	0	1	1	40.2	retraso en crecimiento	-
	35	3B	M	0	2	0	1	1	39.7	retraso en crecimiento	-
	36	3B	M	0	1	0	1	2	39.1	retraso en crecimiento	-
	37	14B	M	0	1	0	1	1	38.3	retraso en crecimiento	-
	38	14B	M	1	2	0	1	1	39.8	retraso en crecimiento	-
	39	13B	M	0	1	0	1	1	39.8	retraso en crecimiento	-
	40	13B	M	0	1	0	1	1	38.1	retraso en crecimiento	-
	41	12B	M	0	2	0	1	1	39.2	-	-
	42	11B	M	0	1	0	1	1	38	retraso en crecimiento	-
	43	11B	M	0	1	0	1	1	38.6	retraso en crecimiento	-
	44	11B	M	0	1	0	1	3	41.2	retraso en crecimiento	-
	45	6B	F	1	1	0	1	1	39.5	retraso en crecimiento	-
Bellcaire d'Urgell (Peso esperado de los animales para la fase productiva: 30 kg)	1	10	F	0	1	1	1	1	39.9	pálido	19.4
	2	10	F	0	2	1	2	1	39.3	opsia apical de los pavillon	26.7
	3	10	F	0	2	1	3	1	37.7	Hipotérmico, pálido	19.1
	4	10	M	0	2	1	1	1	38.2	pálido	16.3
	5	10	M	0	2	1	1	1	39.5	pálido	19.3
	6	10	M	0	1	1	1	1	38.7	pálido	20.3
	7	10	M	0	2	1	1	1	39.9	-	26.3
	8	10	M	0	1	1	1	1	38.5	pálido	18.4
	9	10	M	0	1	1	2	1	38.5	pálido, encorvado	18.1
	10	10	M	0	2	1	2	1	39.3	páido y pequeño	19.3
	11	10	F	0	1	1	2	1	39.5	pálido y muy pequeño	11.4
	12	10	F	0	2	1	1	1	39.7	-	22.6
Ponts (Peso esperado de los animales para la fase productiva: 20 kg)	1	14	M	0	2	1	1	1	38.8	pequeño y peludo	12.1
	2	14	M	0	2	1	1	1	39.8	pequeño y peludo	11.4
	3	14	F	0	2	1	1	1	39.0	pequeño y peludo	13.2
	4	14	M	0	2	1	1	1	39.2	pequeño y peludo	13.4
	5	14	M	0	2	1	1	1	39.7	pequeño y peludo	11.2
	6	14	F	0	2	1	1	2	40.2	pequeño y peludo	12.8
	7	14	F	0	2	1	1	2	40.1	pequeño y peludo	13.0
	8	14	M	0	1	1	1	1	39.0	pequeño y peludo	9.9
	9	14	F	0	2	1	1	1	39.8	pequeño y peludo	14.2
	10	14	F	0	2	1	1	1	39.1	pequeño y peludo	13.9
	11	14	M	0	2	1	1	1	38.9	pequeño y peludo	12.1
	12	14	M	0	2	1	1	1	39.1	-	15.6

**APÉNDICE 2**  
**VALIDACIÓN DE LOS MÉTODOS ANALÍTICOS**

**Figura 1.** Clortetraciclina

CLORTETRACICLINA		
EXTRACCIÓN	líquido-líquido	
SEPARACIÓN	HPLC	
DETECCIÓN	UV	
ESTANDARD INTERNO	Doxiciclina	
VALIDACIÓN		
LINEALIDAD		
RANGO CALIBRACIÓN	0,2-10 µg/ml	
INTECEPTO	0,01226	
PENDIENTE	0,2265	
COEF. CORR.	0,99996	
PRECISIÓN	INTRADÍA	INTERDÍA
0,2 µg/ml	5,38	1,54
1 µg/ml	3,91	1,05
10 µg/ml	5,28	0,79
EXACTITUD	INTRADÍA	
0,2 µg/ml	-3,13	
1 µg/ml	-1,47	
10 µg/ml	0,70	
LQ = 0,2 µg/ml	LD = 0,004 µg/ml	
ESTABILIDAD MATRIZ - 90 días a -20°C		

Figura 1: Muestra Blanca

Figura 2: Muestra de plasma fortificada a 1 µg/ml

Figura 3: Muestra problema

Figura 1

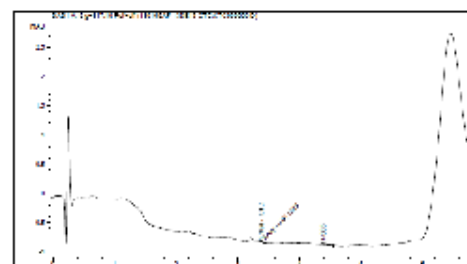


Figura 2

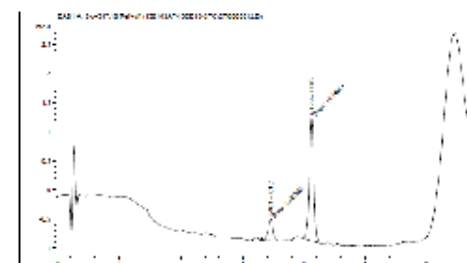


Figura 3

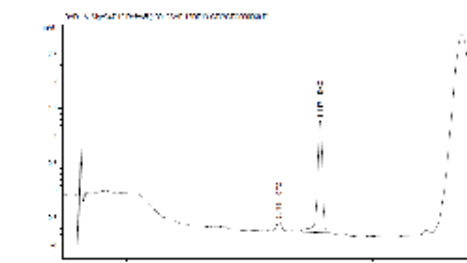


Figura 2. Oxitetraciclina

OXITETRACICLINA		
EXTRACCIÓN	líquido-líquido	
SEPARACIÓN	HPLC	
DETECCIÓN	UV	
ESTANDARD		
INTERNO	Doxiciclina	
VALIDACIÓN		
LINEALIDAD		
RANGO CALIBRACIÓN	0,2-10 µg/ml	
INTECEPTO	0,01226	
PENDIENTE	0,2265	
COEF. CORR.	0,99996	
PRECISIÓN	INTRADÍA	INTERDÍA
0,2 µg/ml	5,38	1,54
1 µg/ml	3,91	1,05
10 µg/ml	5,28	0,79
EXACTITUD	INTRADÍA	
0,2 µg/ml	-3,13	
1 µg/ml	-1,47	
10 µg/ml	0,70	
LQ = 0,2 µg/ml	LD = 0,05 µg/ml	
ESTABILIDAD MATRIZ - 15 días a -20°C		

Figura 1: Muestra Blanca

Figura 2: Muestra de plasma fortificada a 1 µg/ml

Figura 3: Muestra problema

Figura 1

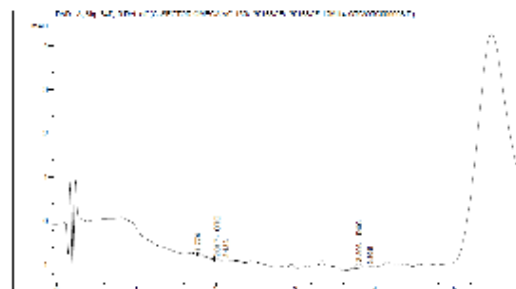


Figura 2

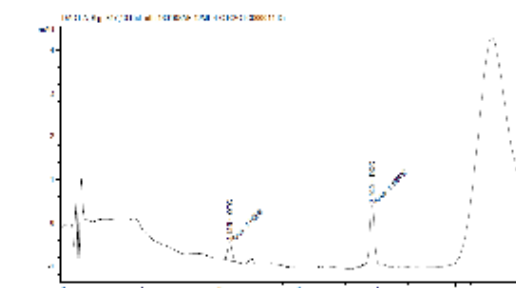


Figura 3

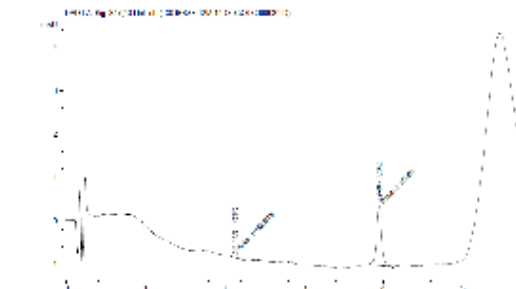


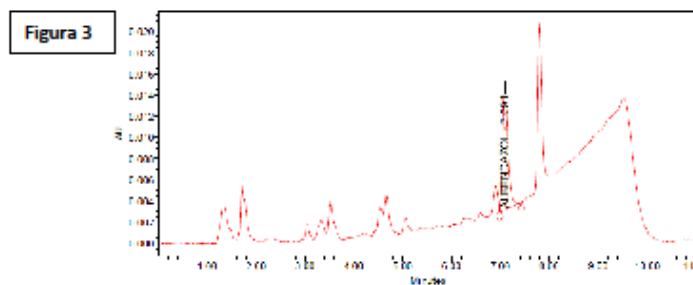
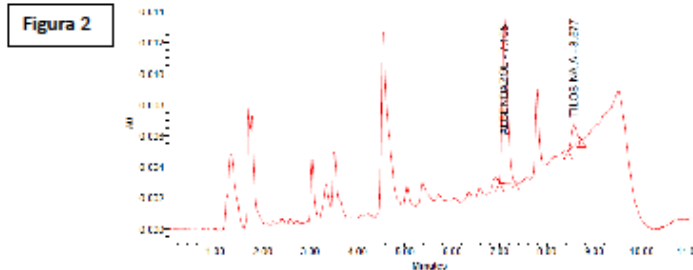
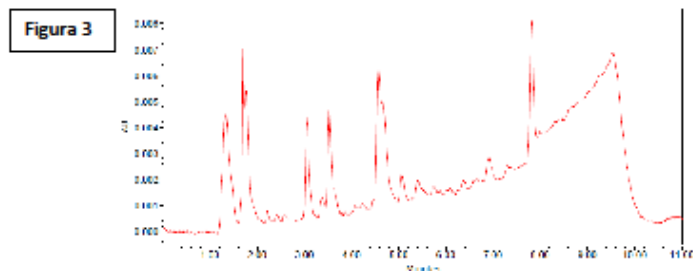
Figura 3. Tilosina

TILOSINA		
EXTRACCIÓN	liquido-liquido	
SEPARACIÓN	HPLC	
DETECCIÓN	UV	
ESTANDARD		
INTERNO	Albendazol	
VALIDACIÓN		
LINEALIDAD		
RANGO CALIBRACIÓN	0.01-1 µg/ml	
INTECEPTO	-0.0005313	
PENDIENTE	1.12	
COEF. CORR.	0,99999	
PRECISIÓN	INTRADÍA	INTERDÍA
0,01 µg/ml	12.39	4.95
0,1 µg/ml	10.63	2.30
1 µg/ml	8.94	8.96
EXACTITUD	INTRADÍA	
0,01 µg/ml	16.67	
0,1 µg/ml	-9.33	
1 µg/ml	-8.30	
LQ = 0,01 µg/ml	LD = 0.0026 µg/ml	
ESTABILIDAD MATRIZ - 30 días a -20°C		

Figura 1: Muestra Blanca

Figura 2: Muestra de plasma fortificada a 1 µg/ml

Figura 3: Muestra problema



### **APÉNDICE 3**

#### **CONCENTRACIONES DE CLORTETRACICLINA Y OXITETRACICLINA**

**Tabla 1.** Concentraciones individuales de clortetraciclina en animales sanos (Granja Ca N'Arola)

Grupo	Animal	Concentraciones plasmáticas de clortetraciclina ( $\mu\text{g/mL}$ ) tras 8 días de pienso medicamentoso		
		0h	12h	24h
Grupo A (TLS)	1	NC	NC	NC
	2	NC	NC	NC
	3	NC	NC	NC
	4	NC	NC	NC
	5	NC	NC	NC
	6	NC	NC	NC
	7	NC	NC	NC
	8	NC	NC	NC
	9	NC	NC	NC
	10	NC	NC	NC
Media				
D.E.				
Grupo B (CTC)	11	0.37	0.38	0.27
	12	0.31	0.30	0.31
	13	0.39	0.47	0.31
	14	0.50	0.47	0.42
	15	0.53	0.47	0.44
	16	0.89	0.51	0.51
	17	0.41	0.41	0.30
	18	0.56	0.40	0.39
	19	0.50	0.40	0.32
	20	0.48	0.38	0.42
Media		0.47	0.42	0.37
D.E.		0.11	0.06	0.08
Grupo C (TLS + CTC)	21	0.46	0.49	0.40
	22	0.34	0.43	0.39
	23	0.48	0.52	0.40
	24	0.62	0.77	0.45
	25	0.40	0.40	0.29
	26	0.60	0.47	0.50
	27	0.58	0.42	0.49
	28	0.52	0.42	0.39
	29	0.46	0.43	0.48
	30	0.39	0.46	0.49
Media		0.49	0.48	0.43
D.E.		0.09	0.11	0.07
Grupo D (TLS + CTC + C)	31	0.49	0.51	0.46
	32	0.46	0.40	0.34
	33	0.41	0.39	0.41
	34	0.74	0.52	0.38
	35	0.35	0.55	0.47
	36	0.59	0.62	0.49
	37	0.44	0.44	0.62
	38	0.63	0.56	0.43
	39	0.47	0.37	0.35
	40	0.40	0.44	0.35
Media		0.50	0.48	0.43
D.E.		0.12	0.08	0.09

NC: Concentraciones no cuantificables

TLS: Tilosina; CTC: clortetraciclina; C: Colistina



**Tabla 2.** Concentraciones individuales de clortetraciclina en animales enfermos (Granja Artesa de Lleida)

Animal	Concentraciones plasmáticas de clortetraciclina ( $\mu\text{g/mL}$ ) tras 9 (sombreado) o 5 días de pienso medicamentoso		
	0h	12h	24h
1	0.42	0.60	0.52
2	0.17	0.19	0.41
3	0.16	0.27	0.29
4	0.25	0.52	0.52
5	0.30	0.31	0.34
6	NC	0.13	0.14
7	0.55	0.75	0.98
8	0.12	0.17	0.29
9	0.21	0.33	0.56
10	0.30	0.40	0.46
11	0.16	0.37	0.37
12	0.11	0.11	NC
13	0.05	0.08	0.09
14	NC	0.35	0.26
15	0.03	0.17	0.20
16	0.20	0.37	0.28
17	0.08	0.29	0.41
18	0.13	0.16	0.06
19	0.33	0.35	0.40
20	0.14	0.21	0.26
21	0.47	0.57	0.44
22	0.54	0.62	0.81
23	0.13	0.37	0.36
24	0.12	0.33	0.29
25	0.24	0.34	0.48
26	0.29	0.42	0.61
27	0.24	0.36	0.40
28	0.32	0.45	0.49
29	0.40	0.44	0.40
30	0.51	0.67	0.63
31	0.26	0.39	0.36
32	0.40	0.10	0.39
33	0.31	0.65	0.12
34	0.30	0.61	0.49
35	0.22	0.41	0.47
36	NC	0.38	0.07
37	0.24	0.49	0.57
38	0.22	0.26	0.34
39	0.22	0.48	0.59
40	0.45	0.61	0.43
41	0.49	0.95	0.88
42	0.01	0.60	0.10
43	NC	0.39	0.10
44	NC	0.05	0.07
45	0.52	0.45	0.74
Media	0.29	0.43	0.40
D.E.	0.14	0.19	0.22

NC: Concentraciones no cuantificables

**Tabla 3.** Concentraciones individuales de clortetraciclina en animales enfermos (Granja Bellcaire d'Urgell)

Animal	Concentraciones plasmáticas de clortetraciclina ( $\mu\text{g/mL}$ ) tras 11 días de pienso medicamentoso		
	0h	12h	24h
1	0.36	0.32	0.37
2	0.17	0.26	0.22
3	0.05	0.26	0.02
4	0.38	0.35	0.05
5	0.12	0.08	0.05
6	0.21	0.16	0.26
7	0.63	0.56	0.56
8	0.33	0.43	0.41
9	0.48	0.52	0.43
10	0.24	0.25	0.27
11	0.21	0.34	0.19
12	0.27	0.17	0.19
Media	0.29	0.31	0.25
D.E.	0.16	0.14	0.17

**Tabla 4.** Concentraciones individuales de clortetraciclina en animales enfermos (Granja Ponts)

Animal	Concentraciones plasmáticas de oxitetraciclina ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) tras 9 días de pienso medicamentoso		
	0h	12h	24h
1	0.42	0.51	0.37
2	0.35	0.14	0.28
3	0.19	0.27	0.19
4	0.32	0.57	0.40
5	0.09	0.34	0.11
6	0.32	0.44	0.09
7	0.35	0.44	0.42
8	0.30	0.27	0.10
9	0.06	0.13	0.01
10	0.14	0.24	0.09
11	0.24	0.40	0.30
12	0.23	0.35	0.18
Media	0.25	0.34	0.21
D.E.	0.11	0.14	0.14