

ESTUDIO DE LA DISTRIBUCIÓN DEL ANTIBIÓTICO FOSFOMICINA EN CALOSTRO-LECHE DE CERDAS

Fernández Paggi MB^{1,2,3}, Soraci AL^{1,4}, Tapia MO^{1,4}, Amanto FA²

¹ Área Toxicología, Dpto. de Fisiopatología, Fac. Cs. Veterinarias, UNCPBA-Tandil

² Área Producción Porcina, Dpto. de Producción Animal, Fac. Cs. Veterinarias, UNCPBA-Tandil

³ CIC, Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires

⁴ CONICET, Comisión Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas

RESUMEN: El uso de antibióticos (ATB) por vía sistémica en cerdas en producción durante el peri-parto es una práctica frecuente y poco racional, la cual se realiza con el objetivo de “disminuir la carga bacteriana” a la cual van a ser sometidos los lechones neonatos. No existe en la bibliografía estudios sobre la distribución de ATB en calostro o leche de cerda. El objetivo del trabajo fue estudiar la distribución del ATB fosfomicina disódica (FOS) en calostro y leche de cerda. FOS fue analizada por HPLC MS-MS. Las concentraciones de FOS tuvieron un rango máximo y mínimo de $1,60 \pm 0,89$ y $0,34 \pm 0,16$ $\mu\text{g/ml}$ respectivamente. El consumo promedio de fosfomicina de la camada fue de $0,27$ mg/kg equivalente a $1,35$ % de la dosis terapéutica oral de fosfomicina en cerdos. El porcentaje promedio de dosis de fosfomicina eliminada por calostro fue de $1,8$ %. Dicho ATB podría ser utilizado en la cerda durante el parto-lactancia con cierta seguridad para el lactante. No obstante, se debería analizar el verdadero impacto de las concentraciones de FOS obtenidas en calostro para determinar los efectos de la droga sobre la implantación de la microbiota intestinal del lechón lactante.

PALABRAS CLAVES: calostro, fosfomicina, lechón, microbiota

STUDY OF THE DISTRIBUTION OF FOSFOMYCIN ANTIBIOTIC IN SOWS COLOSTRUM

ABSTRACT: The use of antibiotics (ATB) in sows during peripartum is a common practice in commercial pig farms. The aim of this practice is to reduce the bacterial load at which the suckling piglet will be exposed at birth. In the bibliography, there are not any studies on the distribution of fosfomicin in colostrum and milk sow. In this work we focus on the study of the distribution of disodium-fosfomicin antibiotic in colostrum and milk sow. Fosfomicin (FOS) concentrations were analyzed by HPLC MS-MS method. Colostral concentration shows a range of 1.60 ± 0.89 and 0.34 ± 0.16 $\mu\text{g/ml}$ between farrow and 10 h after the birth of the first piglet. The average consumption of litter fosfomicin was 0.27 mg/kg, equivalent to 1.35 % of the oral therapeutic dose in pigs. The percentage of IM dose of fosfomicin eliminated by colostrum was 1.8 %. Also, disodium-fosfomicin could be used during farrow-lactation in the sow with some safety measures for piglet suckling. However, the impact of the concentrations of FOS in colostrum should be analyzed to determine the effects of the drug on the intestinal microbiota implantation of the suckling piglet.

KEY WORDS: colostrum, fosfomicin, piglet, microbiota

Fecha de recepción: 01/11/12

Fecha de aprobación: 30/07/12

Dirección para correspondencia: Fernández Paggi, Ma. Belén. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires, Tandil, CP 7000, Buenos Aires, Argentina.

E-mail: belenfp@vet.unicen.edu.ar

INTRODUCCIÓN

Una de las prácticas habituales y poco racionales realizadas en granjas comerciales de cerdos, es la administración “profiláctica” de antimicrobianos vía sistémica (particularmente vía intramuscular (IM)) a la cerda en el día o días previos al parto. El argumento de esta técnica es “disminuir la carga bacteriana” a la cual serán expuestos los lechones al nacimiento. Dicha práctica irracional favorece la subdosificación de los animales exponiendo a las bacterias a concentraciones subterapéuticas beneficiando el desarrollo de resistencia, sin tener en consideración la importancia del pasaje de concentraciones antibióticas a calostro y/o leche y el potencial impacto sobre el equilibrio y la salud intestinal del lechón lactante.

Dado que la leche de cerda no es una matriz biológica destinada al consumo humano en forma directa o indirecta a través de subproductos, existen muy pocos trabajos científicos en la bibliografía internacional sobre la distribución calostril-láctea de antimicrobianos, como la disponible en bovinos de leche, ovinos y caprinos (1, 2, 3). Por tanto, el presente trabajo tuvo como objetivo estudiar las concentraciones del antibiótico fosfomicina en calostro-leche, luego de la administración IM a cerdas durante el período de peri-parto.

MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 ANIMALES-ALIMENTACIÓN-MANEJO

El trabajo experimental se desarrolló en una granja comercial ubicada en el partido de Tandil, Provincia de Buenos Aires. La explotación esta organizada de manera intensiva, en confinamiento total, con ciclo completo en un solo sitio y cuenta con 400 hembras en producción. Para el presente estudio se utilizaron nueve (n: 9) cerdas que no habían recibido antibióticos un mes antes del ensayo, de una misma línea genética, las cuales fueron seleccionadas atendiendo a los siguientes criterios productivos: 2.4 partos por cerda por año, >22 lechones destetados por cerda por año, >27 cerdos nacidos vivos por cerda por año. Las cerdas fueron alojadas en parideras de hierro en salas de maternidad. Las mismas fueron ingresadas 4 días previos al parto y se mantuvieron allí durante 21 días, hasta el destete de sus respectivos lechones.

Durante toda la gestación, las cerdas fueron alimentadas con un alimento comercial en base a “Fase gestación” de 3,0 Mcal EM/kg y 14% de proteínas. Para la lactación se utilizó alimento comercial “Fase lactancia” de 3,2 Mcal EM/kg y 16% de proteínas.

Las hembras fueron inducidas al parto a los 114 días con 1 ml de prostaglandina vía IM. Al mismo tiempo, se administró fosfomicina disódica (98% pureza Sigma-Aldrich®, solubilizada en Sol.

fisiológica), vía IM a razón de 15 mg/kg P.V. Se tomaron muestras de calostro y de leche (pool de 8 ml/cerda) de las mamas de la sección media en tubos de polipropileno (50 ml) inmediatamente después del parto (0) y a las 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24 y 48 h post parto. Las muestras fueron almacenadas en freezer hasta ensayo (-80 °C).

2.2 EXTRACCIÓN Y PURIFICACIÓN DE FOSFOMICINA

Las muestras de calostro y de leche fueron descongeladas a temperatura ambiente de laboratorio (21 °C) y posteriormente homogeneizadas en vortex durante 30 seg. Un (1) ml de calostro fue colocado en tubos de polipropileno, previamente rotulados y sometidos a una doble extracción líquido-líquido mediante el agregado de 6 ml de acetato de etilo. Los tubos fueron agitados durante 20 minutos (agitador automático), centrifugados a 2500 rpm a 4 °C durante 5 minutos y congelados en freezer. En cada extracción la fase orgánica fue descartada. Se agregó 1 ml de metanol a la fase acuosa con el objetivo de precipitar las proteínas hidrosolubles presentes en la misma. Las muestras fueron sometidas a vortex (30 seg) y centrifugadas a 9000 rpm a 4 °C durante 20 minutos. El sobrenadante obtenido fue filtrado mediante el uso de filtros de jeringa de 0,22 µm. Finalmente 100 µl del filtrado fueron diluidos (1/10) con agua HPLC des-ionizada e inyectados en el HPLC MS-MS (4, 5).

Para la realización de la curva de calibración se utilizó calostro proveniente de 5 cerdas controles (libres de antibióticos), recolectado inmediatamente después del parto. Estas hembras fueron mantenidas en iguales condiciones experimentales que las cerdas tratadas. Fudosteína fue adicionado en concentraciones conocidas a las muestras y utilizado como estándar interno. La curva de validación contempló 6 concentraciones por quintuplicado en un rango de 0.1 a 10 µg/ml. A partir de las mismas se determinó la homogeneidad de la linealidad (Test de Hartley). El límite de cuantificación fue calculado por sextuplicado tomando la última concentración (0,1 µg/ml) de la curva de validación. El porcentaje de extracción fue calculado en 3 concentraciones de la curva de validación (10, 5 y 0,1 µg/ml). Así mismo se calculó las variaciones inter día e intra día. La interferencia fue determinada por sextuplicado de extracto blanco de calostro libre de fosfomicina.

Las muestras se procesaron bajo la misma metodología descripta para la extracción y purificación de fosfomicina. Se utilizó un equipo HPLC MS/MS Thermo Inc. con inyector automático termostatzado a 14 °C, con bomba de gradiente cuaternario. La fase móvil estuvo compuesta por acetonitrilo:agua 20:80, trabajando en modo isocrático a un flujo de 250 µl/min.

La separación cromatográfica se realizó en una columna Phenomenex de fase CN, tamaño de partícula 5 µm, 4,6 mm de diámetro interno y 75 mm de largo, en horno a 30 °C. El volumen de inyección fue de 20 µl y el tiempo de corrida para una muestra fue de 6 minutos. La detección de fosfomicina fue realizada por un analizador-detector de triple cuádruplo, marca Thermo (TSQ Quantum). La fuente de iones fue ESI trabajando en modo negativo. La detección se realizó utilizando SRM para las transiciones 137 -> 79 y 178 -> 91 de fosfomicina y fudosteína respectivamente. Los iones precursores de m/z 137 y 178 fueron seleccionados en el primer cuádruplo (Q1). Luego de la fragmentación inducida por colisión con gas argón en Q2, los iones productos de m/z 79 y 91 fueron monitoreados en Q3.

Los parámetros de validación de fosfomicina en leche y calostro fueron determinados acorde a las exigencias de las guías internacionales (6).

2.3 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los valores de concentraciones del antibiótico fueron presentados como medias ± 1 desvío estándar. El Test de Hartley fue utilizado para el análisis de homogeneidad de varianzas de las curvas de calibración de fosfomicina. Los parámetros farmacocinéticos de área bajo la curva (AUC), concentración máxima (C_{max}) y vida media (T_{1/2}) fueron calculados mediante el empleo del software PK Solutions 2.0 (Summit Research Services, Asland, OH, USA).

2.4 ESTIMACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE CALOSTRO-LECHE EN CERDAS Y DE LA CANTIDAD MEDIA DE CALOSTRO INGERIDA POR CAMADA

Un sistema de video-grabación continua (PSS, Pro Surveillance System®) fue montado en la sala de maternidad un día antes del parto de cada cerda. Todos los lechones provenientes de cada cerda en ensayo fueron numerados y pesados inmediatamente al parto y a las 24 h de nacidos. Por medio del sistema de video-grabación se determinó, para cada lactante, el intervalo de tiempo entre el nacimiento y el comienzo de masaje de mama, toma de pezón y mamada efectiva. Los datos obtenidos fueron incorporados a un programa previamente diseñado en una hoja de cálculo (programa Microsoft Excel®), acorde a la metodología descrita por Devillers et al. (2005) (7), y de esta manera fueron calculadas la producción de calostro-leche para cada cerda y el consumo de calostro-leche de los lechones de cada camada. La producción total de calostro-leche de las hembras se obtuvo a partir de la suma del consumo de calostro y leche de cada lechón durante las primeras 24 h luego del parto.

Fórmula de Devillers et al.

$$C = -217.4 + 0.217 \times t + 1861019 \times BW/t + BWb \times (54,80 - 1861019/t) \times (0,9985 - 3.7 \times 10^{-4} \times tf + 6,1 \times 10^{-7} \times tf^2).$$

Tabla 1. Producción de calostro-leche en cerdas y consumo de calostro-leche promedio/camada.
Table 1. Colostrum and milk production in sows. Average colostrum intake and milk for litter.

Parámetros	Cerda 1	Cerda 2	Cerda 3	Cerda 4	Cerda 5	Cerda 6	Cerda 7	Cerda 8	Cerda 9	Media	1 ± SD
Producción calostro-leche/24 h (ml)	3781	2902	4758	2973	1223	2923	4906	973	1851	2921	1408
Consumo promedio calostro-leche por camada/24 h (ml)	252.1	371.6	366.0	300.7	308.5	290.1	446.0	104.8	243.3	294.2	105.6

En la tabla 2 se presentan las concentraciones de fosfomicina (µg/ml) en calostro en función del tiempo, obtenidas luego de la administración IM de 15 mg/kg de fosfomicina disódica en cerdas durante el peri parto.

Tabla 2. Concentraciones individuales y promedio de fosfomicina (n: 9)
NC: no cuantificable (0.1 µg/ml)
Table 2. Fosfomycin individual concentrations and average (n: 9).
NC: lower limit of quantification (0.1 µg/ml)

Tiempo (h)	Media (µg/ml)	1 ± SD
0	1.60	0.89
2	1.10	0.58
4	1.02	0.52
6	0.75	0.40
8	0.73	0.43
10	0.54	0.16
12	NC	NC

En la tabla 3 se presentan los parámetros farmacocinéticos obtenidos a partir de las concentraciones calostrales de fosfomicina luego de su administración a razón de 15 mg/kg en cerdas durante el peri-parto.

Tabla 3. Parámetros farmacocinéticos de fosfomicina en calostro.
Table 3. Pharmacokinetic parameters of fosfomycin in colostrum.

Parámetros	Calostro
AUC ₀₋₁ µg.h/ml	9.10 ± 1.43
C _{max} µg/ml	1.60 ± 0.89
T _{1/2} h	1.80 ± 0.37

La ecuación está basada en el peso corporal en kg del lechón al nacimiento (BWb), el peso corporal en kg a las 24 h post nacimiento (BW), el intervalo entre mamadas efectivas en minutos (tf) y la edad en minutos a las 24 h de nacido ($t = 1400$ minutos). Los diferentes valores que apa-

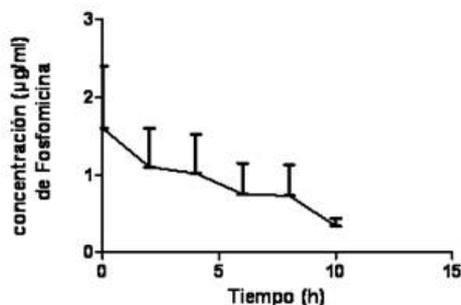


Fig. 1. Evolución del perfil calostroal de fosfomicina en cerdas.
Fig. 1. Evolution profile of fosfomicin in sows.

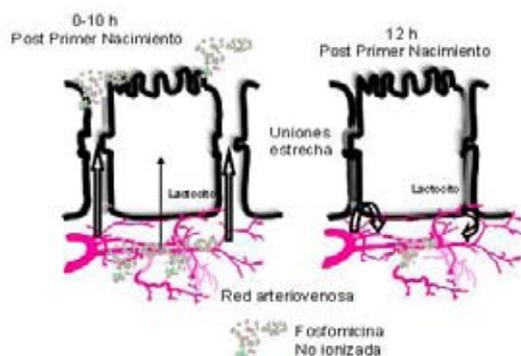


Fig. 2. Representación esquemática del pasaje de fosfomicina a calostro.
Fig. 2. Schematic representation of fosfomicin passage in colostrum.

recen en la fórmula son constantes calculadas por el autor.

RESULTADOS

La utilización de un sistema de análisis de triple cuádruplo asegura selectividad y sensibilidad en la detección de fosfomicina. En las condiciones operatorias seleccionadas, el efecto de la supresión de iones no implica modificaciones analíticas a los tiempos de retención del antibiótico. La cuantificación fue lineal ($r^2: 0.9995$) a los rangos de concentraciones de ensayo y el estudio estadístico aplicado a la linealidad (Test de Hartley) demostró que las varianzas fueron homogéneas. La metodología fue precisa con una exactitud de ER menor a 2 %. El porcentaje de recuperación de los analitos en los diferentes niveles de concentración estuvo dentro del rango 94,9-106,2 % acorde con los criterios de aceptación de las guías internacionales (6). El límite de cuantificación en leche y calostro fue establecido a 0,1 µg/ml.

En la tabla 1 se muestra la producción individual y promedio de calostro-leche en cerdas y el consumo promedio de calostro-leche en cada camada.

En la Fig. 1 se muestra el perfil de las concentraciones calostrales promedio en función del tiempo, obtenidas luego de la administración IM de 15 mg/kg de fosfomicina disódica en cerdas durante el peri-parto.

DISCUSIÓN

El calostro de cerda es un fluido dinámico cuya composición evoluciona rápidamente en el curso de las horas siguientes al inicio del primer nacimiento, para transformarse progresivamente en leche a las 24 horas. Esa dinámica calostroal, fuertemente asociada a cambios hormonales y/o morfo-fisiológicos de la glándula mamaria, puede afectar la cinética de distribución de antibióticos administrados a la cerda en momentos del peri-parto (8). En el presente estudio la producción de calostro-leche de cada cerda y el consumo de calostro-leche/camada fueron de 2921 ± 1408 y $294,2 \pm 105,6$ ml respectivamente. Dichos valores fueron similares a los reportados por Devillers et al. (2005) y Le Dividich et al. (2004) (7, 8). La amplia variación de producción de calostro y leche de la cerda es un hallazgo común ya que la producción de dichos fluidos es dependiente de una amplia variedad de factores fisiológico-productivos intervinientes (producción de hormonas, tamaño y característica de la camada, situaciones inherentes al momento del parto (duración), entre otros) (7, 8, 9). Las concentraciones calostrales mostraron un rango de $1,60 \pm 0,89$ a $0,34 \pm 0,16$ µg/ml entre el parto y 10 h posteriores al primer nacimiento de la camada respectivamente, para caer por debajo del límite de cuantificación de fosfomicina ($0,1$ µg/ml) a las 12 h post primer nacimiento (AUC0-t: $9,1 \pm 1,43$ µg h/ml). El porcentaje promedio de dosis de fosfomicina eliminada por calostro fue de 1,8 %, calculado a partir de la dosis administrada a las cerdas (15 mg/kg PV) y el consumo promedio de fosfomicina por kg de lechón ($0,27$ mg/kg).

Es importante destacar que luego de la inducción de los partos (momento en que se administró la fosfomicina), hasta el primer nacimiento (primera muestra de calostro obtenida), transcurrió un lapso de aproximadamente 12 h. A dicho tiempo, las concentraciones calostrales obtenidas se corresponden con los últimos valores de concentraciones plasmáticas observados luego de la administración de 15 mg/kg por la vía IM en cerdos (rango de concentraciones plasmáticas 1,5-0,5 µg/ml) (4). En el presente estudio no se consideró la posibilidad de extraer muestras seriales de sangre de las cerdas en parición ya que el estrés (el cerdo es la especie productiva más sensible y con mayor memoria de estrés) (10, 11, 12) inducido por las maniobras de inmovilización y toma serial de sangre durante el parto, modifica considerablemente el mismo, la producción y disposición de calostro-leche (10) y por ende el

objetivo central del estudio.

El comportamiento de la distribución calostrual de fosfomicina observado puede encontrar respuesta en las características fisicoquímicas, liposolubilidad y difusibilidad de este antibiótico y en los aspectos morfo-funcionales plasmáticos-mamarios de la cerda (7). La fosfomicina es un antibiótico hidrosoluble que posee un pKa de 6,7, un bajo peso molecular (PM de 137), una insignificante unión a proteínas plasmáticas y tisulares (13), con un moderado a bajo volumen de distribución (Vd ml/kg 273,00 ± 40,70) y un rápido clearance corporal en cerdos (131,50 ± 30,07 ml/kg/h) (4).

El principal mecanismo de pasaje a través de las membranas biológicas descrito para fosfomicina es la difusión pasiva de la fracción libre (no unida a proteínas) y no ionizada de la molécula. En el estadio fisiológico de peri-parto - inicio de lactación, la difusión pasiva de fármacos se encuentra fuertemente facilitada por la apertura temprana de las uniones estrechas de los lactocitos hormonalmente modificadas (8, 9, 14, 15, 16, 17). Ello explicaría entonces, las concentraciones más altas determinadas al momento del parto. La relación pKa de fosfomicina (pKa 6,7) y de pH del fluido calostrual (pH 6,9) haría que el 50 % de fracción se encuentre no ionizada y en equilibrio con el plasma, no existiendo fenómeno de ión trapping. El perfil plasmático y el comportamiento farmacocinético de fosfomicina observado luego de su administración intramuscular ($T_{1/2}$: 1,85 ± 0,19 h ; CL: 131,50 ± 30,07 ml/kg/h) (4) sumado a un progresivo cierre de las uniones estrechas entre las células epiteliales mamarias, asociado a cambios hormonales (aumento de cortisol, prolactina y caída de la progesterona), acontecidos en las siguientes primeras horas post parto (7, 8, 9), disminuiría la penetración de fosfomicina en este fluido, no encontrando concentraciones cuantificables para dicho antibiótico en ninguna cerda sometida a tratamiento a las 12 h post primer nacimiento (ver Fig. 2).

En función de las concentraciones de fosfomicina obtenidas en el calostro, se podría hacer una estimación teórica sobre el potencial impacto de dicho antibiótico en la microbiota del lactante (18, 19) a partir de la siguiente fórmula:

Dosis Antibiótico recibida por el lactante:

Concentración del Antibiótico en calostro x Volumen de calostro o leche ingerido (19)

La cantidad media de calostro ingerida por lactante (con un peso promedio de peso 1,5 kg) fue de 294,2 g/kg PV, lo que hace un consumo promedio por animal de 441,3 g de calostro. Si referimos las concentraciones calostruales de fosfomicina obtenidas durante 10 h en nuestro ensayo, con el consumo promedio total de calostro, la

dosis promedio ingerida del antibiótico/lactante sería de 0,27 mg/kg. Ello representa un 1,35 % de una dosis terapéutica oral (20 mg/kg).

Finalmente se podría estimar que, teniendo en cuenta los máximos y mínimos de las concentraciones promedio obtenidas (máx: 1,60 ± 0,89 y min: 0,34 ± 0,16, respectivamente) y un consumo de calostro promedio/h de 44,1 g, los primeros lechones nacidos dentro de la hora, serán sometidos a mayores concentraciones de fosfomicina (alrededor de 70,56 µg totales), con respecto a los nacidos más tardíamente.

En conclusión podríamos decir que la distribución de fosfomicina a fluido mamario luego de la administración IM de 15 mg/kg, es baja, abarcando 10 h del periodo calostrual (AUC_{0-t}: 9,1 ± 1,43 µg h/ml). Dichas concentraciones se mantuvieron por encima de la CIM durante más de 8 h para bacterias patógenas de importancia productiva e involucradas en procesos infecciosos de mastitis y/o metritis (20) (*E. coli* y *Streptococcus* sp. CIM90: 0,25-0,5 µg/ml respectivamente) (21). Ello indicaría que la fosfomicina podría ser utilizada en procesos infecciosos bacterianos en la cerda durante el peri-parto-lactancia. No obstante, sería totalmente irracional su administración preventiva, ya que por un lado, las concentraciones residuales de fosfomicina halladas en calostro, podrían inducir desequilibrios sobre una microbiota incipiente en fase de colonización gastrointestinal en el lactante (4, 18, 19). Por otro lado, existen sospechas muy fundadas de que la excreción de antibióticos y/o sus metabolitos activos ejercen presión de selección sobre la flora bacteriana comensal, generando un "reservorio" de genes codificadores de resistencia, que pasan de bacteria en bacteria y pueden alcanzar, eventualmente a la población humana (22, 23). Según algunos autores, cepas bacterianas saprófitas del mismo género y especie, sometidas a diferentes grados de presión antibiótica, comparten resistencia a los mismos antibióticos (22, 24, 25). La diseminación de la resistencia a los antibióticos representa una amenaza continua, y es una de las mayores preocupaciones en el ámbito de la salud pública y de la sanidad animal.

BIBLIOGRAFÍA

1. Mestorino N, Landoni MF, Alt M, Errecalde JO. The pharmacokinetics of thiamphenicol in lactating cows. *Vet Res Comm* 1993; 17: 295-303
2. Mestorino N, Marchetti ML, Turic E, Pesoa J, Errecalde J. Concentrations of danofloxacin 18 % solution in plasma, milk and tissues after subcutaneous injection in dairy cows. *Anal Chim Acta* 2009; 637: 33-39
3. Lucas MF, Errecalde JO, Mestorino N. Pharmacokinetics of azithromycin in lactating dairy cows with subclinical mastitis caused by *Staphylococcus aureus*. *J Vet Pharmacol Ther* 2010; 33: 132-40

M. Fernández Paggi y col.

4. Soraci AL, Pérez DS, Martínez G, Dieguez S, Tapia MO, Amanto FA, et al. Disodium-fosfomicin pharmacokinetics and bioavailability in post weaning piglets. *Res Vet Sci* 2011; 90: 498-502
5. Soraci AL, Pérez DS, Martínez G, Dieguez S, Tapia MO, Coulsi A, et al. Pharmacokinetics and bioavailability of fosfomicin in broiler chicken. *Rev Med Vet* 2011; 162: 358-363
6. U. S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration (FDA), Center for Drug Evaluation and Research (CDER), Center for Veterinary Medicine (CVM). Guidance for Industry, Bioanalytical Method Validation 2001.
7. Devillers N, Le Dividich J, Farmer C, Mounier AM, Lefebvre M, Prunier A. Origine et conséquences de la variabilité de la production de colostrum par la truie et de la consommation de colostrum par les porcelets. *J Rech Porcine* 2005; 37: 435-442
8. Le Dividich J, Martineau GP, Thomas F, Demay H, Renoult H, Homo C, et al. Acquisition de l'immunité passive chez les porcelets et production de colostrum chez la truie. *J Rech Porcine* 2004; 36: 451-456
9. Farmer C. The role of prolactin for mammatogenesis and galactopoiesis in swine. *Livest Prod Sci* 2001; 70: 105-113
10. McGlone JJ, Salak JL, Lumpkin EA, Nicholson RL, Gibson M. y Norman RL. Shipping stress and social status effects on pig performance, plasma cortisol, natural killer cell activity and leukocyte numbers. *J Anim Sci* 1993; 71: 888-896
11. Smith CA, Ficken MD. Non-surgical cannulation of the vena cava for chronic blood collection in mature swine. *Lab Anim Sci* 1991; 41: 274-278
12. Dubreuil P, Farmer C, Couture Y, Petitclerc D. Hematological and biochemical changes following an acute stress in control and somatostatin-immunized pigs. *Can J Anim Sci* 1993; 73: 241-252
13. Kirby WM. Pharmacokinetics of fosfomicin. *Chemotherapy* 1977; 23: 141-151
14. Cregan MD, Hartmann PE. Computerized breast measurement from conception to weaning: clinical implications. *J Hum Lact* 1999; 15: 89-96
15. Fleishaker JC. Models and methods for predicting drug transfer into human milk. *Adv Drug Deliv Rev* 2003; 55: 643-652
16. Pons G, Rey E. Passage des médicaments Dans le lait. *Les médicaments en périnatalogie*. Masson (Paris), 2003; p. 17-26
17. Lee KG. Lactation and drugs. *J Paediatr Child Health* 2007; 17: 68-71
18. Gremmo-Féger G, Dobrzynski M, Collet M. Allaitement maternel et médicaments. *J Gynecol Obstet Biol* 2003; 32: 466-475
19. Damase-Michel C, Rolland M, Assouline C, Tricoire J, Lacroix I. Médicaments et allaitement maternel. *EMC-Médecine* 2004; 1: 417-432
20. Martineau GP. Maladies d'élevage des porcs. Ed. France Agricole 1997; p. 174-209
21. Sumano LH, Ocampo CL, Gutierrez OL. Intravenous and intramuscular pharmacokinetics of a single-dayly dose of disodium-fosfomicin in cattle, administered for 3 days. *J Vet Pharmacol Ther* 2007; 30: 49-54
22. Levy SB. Antibiotic resistance: an ecological imbalance. In *Antibiotic Resistance: Origins, evolution, selection and spread* edited by D. J. Chadwick, J. Goode. West Sussex, England: Wiley, Chichester (Ciba Foundation Symposium 207) 1997; p. 1-14
23. European Medicines Agency –EMA-. Antibiotic resistance in the European Union associated with therapeutic use of veterinary medicines 1999
24. van den Bogaard AE, London N, Driessen C, Stobbering EE. Antimicrobial resistance in pig faecal samples from The Netherlands (five abattoirs) and Sweden. *J Antimicrob Chemother* 2000; 45: 663-671
25. Wise R. Maximizing efficacy and reducing the emergence of resistance. *J Antimicrob Chemother* 2003; 51: 37-42