

Pharmacocinétique et biodisponibilité de fosfomycine chez le poulet de chair

A.L. SORACI^{1*}, D.S PEREZ¹, M.O. TAPIA¹, G. MARTÍNEZ¹, S. DIEGUEZ¹, F. BURONFOSSE-ROQUE², R. HARKES³, A. COLUSI³, O. ROMANO³

¹Departamento de Fisiopatología, Área Toxicología, Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires, Campus Universitario, Paraje Arroyo Seco s/n, Tandil, Buenos Aires, ARGENTINA.

²Centre de Pharmacovigilance, Vetagro-Sup, Campus Vétérinaire de Lyon, 69280 Marcy L'Etoile, FRANCE.

³Laboratorio Bedson S.A. Pilar, Buenos Aires, ARGENTINA.

* Auteur chargé de la correspondance : alejandro@vet.unicen.edu.ar

RÉSUMÉ

La pharmacocinétique et biodisponibilité de deux formulations de fosfomycine (fosfomycine disodique et fosfomycine calcique) ont été étudiées chez le poulet de chair. Les concentrations plasmatiques de fosfomycine ont été mesurées par chromatographie liquide haute performance (HPLC) couplée à une spectrométrie de masse en tandem (HPLC – SM/SM). Après administration d'un bolus intraveineux, la demi-vie d'élimination chez le poulet de chair est environ 1,4 h et le volume de distribution 231 ml/kg. Après absorption de fosfomycine par voie orale les valeurs de C_{max}, T_{max}, AUC₍₀₋₂₄₎ et biodisponibilité (F) sont respectivement 29,8 µg/ml, 2,0 h, 125 µg.h/ml et 39,3 %. Après l'administration par voie intramusculaire, les valeurs obtenues sont 20,7 µg/ml, 0,8 h, 65,1 µg.h/ml et 82 % pour la C_{max}, T_{max}, AUC₍₀₋₂₄₎ et biodisponibilité (F) respectivement. En considérant une CIM₉₀ = 8 µg/ml pour la fosfomycine sur des souches de *E.coli* chez le poulet de chair, les rapports AUC₀₋₂₄/CIM₉₀ calculés pour la fosfomycine administrée par voie orale et intramusculaire sont de 15,6 et 8,1 ce qui suggère une efficacité thérapeutique insuffisante *in vivo* lors d'une administration unique. Pour cette raison, il a été récemment proposé d'utiliser sur des souches sensibles de *E.coli*, une dose orale de charge de 40 mg/kg de fosfomycine disodique administrée dans l'eau de boisson, suivie d'une nouvelle administration de 40 mg/kg 8 h plus tard (soit 80 mg/kg par jour).

Mots-clés : Poulet de chair, Fosfomycine, Pharmacocinétique, Biodisponibilité.

SUMMARY

Pharmacokinetics and bioavailability of fosfomycin in broiler chicken

The pharmacokinetics and the bioavailability of fosfomycin salts (sodium fosfomycin and calcium fosfomycin) were studied in broiler chickens after intravenous, intramuscular and oral administration. Plasma concentrations were measured by high performance liquid ms/ms. After IV administration the area under the fosfomycin concentration: time curve in plasma was AUC₍₀₋₂₄₎ of 318 µg.h/ml and the volume of distribution (V_d) of 231 ml/kg. The elimination was rapid with a plasma clearance of 115 ml/kg/hr and a T_{1/2} of 1.4 h. Peak plasmatic concentration (C_{max}), T_{max}, AUC₍₀₋₂₄₎ and bioavailability for the oral administration (40 mg/kg) were 29.8 µg/ml, 2.0 h, 125 µg.h/ml and 39.3% respectively. Peak plasmatic concentration (C_{max}), T_{max}, AUC₍₀₋₂₄₎ and bioavailability for the IM administration (10 mg/kg) were 20.7 µg/ml, 0.8 h, 65.1 µg.h/ml and 82% respectively. Considering a minimum inhibitory concentration (MIC₉₀) of 8 µg/ml for fosfomycin on *E.coli* in broilers, the ratios AUC₀₋₂₄/CIM₉₀ estimated for fosfomycin after oral and IM administrations were 15.6 and 8.1 respectively. This suggests an insufficient therapeutic efficacy *in vivo* when administered in a unique dose. For this reason, a loading dose of 40 mg/kg via drinking water has been recently proposed for disodium fosfomycin versus *E. coli* strains, followed by *ad libitum* administration of 40 mg/kg 8h later (i.e. 80 mg/kg per day).

Keywords: Broiler chickens, Fosfomycin, Pharmacokinetics, Bioavailability.

Introduction

La fosfomycine (l'acide cis-1,2-epoxidefosfonique) est un antibiotique bactéricide, temps dépendant (t > CMI). Son large spectre lui confère une activité sur des bactéries à Gram (+) et (-) et anaérobies. Plusieurs études ont montré une activité *in vitro* sur *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus spp.*, *Haemophilus spp.*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus spp.*, *Clostridium spp.*, *Pasteurella multocida*, *Salmonella*, *Pseudomonas aeruginosa* [1, 2].

La fosfomycine agit par inhibition de la synthèse de la paroi bactérienne. En effet, elle inhibe la pyruvyl transférase impliquée dans l'une des premières réactions de la synthèse du peptidoglycane. Cette étape étant intra cytoplasmique, la pénétration de la fosfomycine à l'intérieur de la bactérie est nécessaire à son activité. Elle y pénètre par le système de transport de l'a-glycérophosphate et des hexoses monophosphates. Ce dernier système de transport est inductible par le glucose-6 P. Il n'existe pas de résistance croisée de la

fosfomycine avec d'autres antibiotiques en raison de sa structure chimique unique et de son mode d'action [3-5].

La fosfomycine est une molécule largement répandue sur les marchés vétérinaires en Argentine, au Brésil et en Amérique Centrale. Elle est couramment prescrite en traitement des maladies infectieuses chez les volailles et chez le porc. Les formes galéniques commercialisées de la fosfomycine sont adaptées à une administration par voie sous-cutanée ou intramusculaire (fosfomycine disodique), ainsi qu'à une administration par la voie orale (fosfomycine trométhamine et fosfomycine calcique). Différentes doses de fosfomycine par voie orale ont été proposées chez les volailles (20, 40 et 80 mg/kg), une ou deux fois par jour [10].

La pharmacocinétique de la fosfomycine a été étudiée chez différentes espèces animales : chevaux, chiens, bovins, lapins et porcs [2, 6-8]. A notre connaissance, deux études de pharmacocinétique de la fosfomycine ont été réalisées chez les volailles [9-10].

Etant donné que les études pharmacocinétiques permettent d'optimiser l'utilisation des antibiotiques sur des bases rationnelles [11-14], il nous a semblé intéressant d'évaluer la pharmacocinétique et la biodisponibilité de deux formulations de fosfomycine chez le poulet de chair.

Matériel et Méthodes

Formulations de fosfomycine :

- Solution aqueuse de fosfomycine disodique.
- Fosfomycine calcique en poudre (Pureté 98,9 %) (Laboratoire Bedson S.A, Pilar, Buenos Aires, Argentine).

ANIMAUX ET LOGEMENT

Les sujets sélectionnés pour l'expérimentation sont des individus en bonne santé, entretenus selon les pratiques réglementaires (paramètres d'environnement et d'alimentation). Ainsi, cent quarante quatre (144) poulets de chair souche Ross blanche (72 mâles et 72 femelles), âgés de 3 semaines, ont été identifiés individuellement et logés dans 3 cages paillées à raison de 48 sujets par cage. Le poids moyen est de $1,40 \pm 0,13$ Kg.

Les animaux sont maintenus dans un bâtiment statique avec éclairage naturel, sur copeaux, les cages étant chauffées par des radiants (densité : 20 poulets m^2). Des trémies et abreuvoirs siphoniques en nombre approprié complètent le matériel d'élevage.

TRAITEMENTS

Les traitements sont administrés après 6 heures de jeûne d'aliments solides.

Groupe A : Fosfomycine disodique à 40 mg/kg (doses en principe actif), cette dose étant administrée en bolus IV (veine de l'aile).

Groupe B : Fosfomycine disodique à 10 mg/kg (doses en principe actif), cette dose étant administrée IM dans les muscles pectoraux.

Groupe C : Fosfomycine calcique à 40 mg/kg (doses en principe actif), cette dose étant administrée voie orale par une canule plastique connectée à une seringue (2,5 ml) permettant de franchir le jabot. Le volume administré est de 1,2 ml (le rinçage de la canule est effectué avec 1 ml de tampon pH 6).

PRÉLÈVEMENTS

Les prélèvements sanguins sont effectués sur tubes héparinés (6 ml) juste avant l'administration puis à 0, 5, 15, 30, 45, 60, 90 minutes, 2, 3, 4, 5, 6 et 8 heures après administration des différentes formulations. Chaque fois, 4 poulets sont prélevés. Les prélèvements sont centrifugés pendant 10 min à 900 G. Le plasma est séparé puis stocké en congélation à -20°C jusqu'à l'analyse.

TECHNIQUE ANALYTIQUE

La fosfomycine est dosée par chromatographie liquide à haute performance (HPLC) couplée à une spectrométrie de masse en tandem (HPLC-SM/SM), méthode décrite par LI *et al* [15] que nous avons cependant fortement modifiée, notamment dans le but de réduire l'effet de suppression d'ions lors de l'extraction et d'optimiser les paramètres de l'appareillage [16].

Le traitement des échantillons est réalisé en deux étapes successives de précipitation des protéines et d'extraction liquide/liquide, selon le protocole suivant :

Dans un tube de 10 ml sont ajoutés 100 μl de plasma, l'étalon interne (fudosteine) en quantité constante (150 $\mu\text{g}/\text{ml}$) et 1 ml de méthanol. Le tube est ensuite soumis à une agitation en Vortex (30 sec); après centrifugation de 10 min à 1000 G, le surnageant est transféré dans un tube à bouchon étanche et évaporé à 60°C sous azote. Le résidu sec est alors repris par 200 μl d'eau désionisée et 1 ml de réactif de Folch (hexane-éthanol 5 :1). Après agitation mécanique pendant 20 min, le tube est centrifugé pendant 5 min à 1000 G et 20 μl de la phase aqueuse sont ajoutés à 400 μl d'eau désionisée analar. La solution est ensuite filtrée (filtre de nylon, 20 μm , Restek®). Une fraction aliquote de 20 μl est injectée automatiquement dans le système HPLC-SM/SM [16].

La fosfomycine est séparée par chromatographie liquide sur phase inverse (colonne analytique Phenomenex, CN, 75 x 4,6 mm I.D, 5 μm , four pour colonne à 30°C) à l'aide du mélange acétonitrile/eau 20/80 v/v délivré en mode isocratique. Le débit est fixé à 250 $\mu\text{l}/\text{min}$.

La détection est assurée par un détecteur SM/SM en tandem de triple quadripôle, Thermo (TSQ Quantum), équipé d'un passeur d'échantillons liquides et associé au logiciel Xcalibur®. Les conditions opératoires du système triple quadripôle du spectromètre (SMSM) ont été les suivants: électrospray (ESI) en mode négatif, débit d'azote de 20 L/min, (350°C), pression de nébulisation de 25 psig, tension du capillaire de 3800eV. La détection est assurée en utilisant le mode de balayage SRM avec des transitions 137 \rightarrow 79 et 178 \rightarrow 91 pour la Fosfomycine et la Fudosteine respectivement. Les ions précurseurs de m/z 137 et 178 sont sélectionnés dans le premier quadripôle (Q1). Après fragmentation induite par collision en Q2, les ions produits de m/z 79 et 91 sont balayés en Q3.

La détermination des concentrations plasmatiques est effectuée à l'aide d'une gamme étalon réalisée sur du plasma libre d'antibiotiques dans l'intervalle de concentration 0,1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ à 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ et préparés dans les mêmes conditions. La limite de quantification est obtenue en calculant la plus petite concentration de la courbe d'étalonnage en dessous de laquelle les limites de précision et d'exactitude ou les limites de tolérance sont en dehors des limites d'acceptation ($\leq 20\%$). Pour cette détermination, un pool de plasma est supplémenté à la concentration la plus faible de la courbe d'étalonnage et analysée six fois par HPLC-SM/SM. Cette opération est répétée pendant trois jours.

La méthode est validée pour des domaines de linéarité ($r^2 > 0,995$). Une analyse de variance (ANOVA) est réalisée

pour évaluer la fiabilité de la linéarité. La justesse et la précision de la méthode pour analyser des échantillons de concentrations connues sont évaluées à l'aide de contrôles de qualité (CQ). Elles sont déterminées à partir de l'analyse sur six contrôles de qualité (CQ) de fosfomycine à des concentrations faibles, moyennes et élevées. La précision est déterminée par le coefficient de variation (CV %) et la justesse est déterminée en comparant les moyennes des concentrations trouvées dans les contrôles de qualité avec les valeurs théoriques et exprimées en pourcentage. La variabilité intra jours est déterminée par l'analyse de six aliquotes de plasma supplémenté. Pour déterminer la variabilité inter jours cette opération a été répétée pendant cinq jours [16].

ANALYSE DES DONNÉES

L'analyse pharmacocinétique est réalisée à l'aide du logiciel pK Solutions 2.0 (Summit Research Services, Asland, OH, USA), selon une approche non compartimentale. Les aires sous la courbe des concentrations (AUC) de fosfomycine en fonction du temps sont calculées en utilisant la méthode des trapèzes arithmétiques [17]. Du temps 0 au temps correspondant à la dernière concentration observée (C_{last}), l'aire sous la courbe concentration totale ou à l'infini AUC ($0-\infty$) est déterminé avec l'équation 1 :

$$AUC(0-\infty) = AUC(0-c.last) + C_{last} / \lambda_z \quad \text{Equation 1}$$

Où λ_z représente la pente de la dernière phase.

Le temps de demie-vie ($T_{1/2}$) est obtenu à l'aide de l'équation 2 :

$$T_{1/2} = 0,693 / \lambda_z \quad \text{Equation 2}$$

La biodisponibilité (F) est calculée à l'aide de l'équation 3

$$F = \frac{AUC \text{ p.o.}}{AUC \text{ i.v.}} \times \frac{Dose \text{ i.v.}}{Dose \text{ p.o.}} \times 100 \quad \text{Equation 3}$$

Où AUC p.o. - IM = AUC après administration orale- IM
AUC i.v. = AUC après administration intraveineuse
Dose p.o. - IM : Dose oral ou intramusculaire

Résultats

L'utilisation d'un analyseur de type triple quadripôle assure effectivement sélectivité et sensibilité de détection. Dans les conditions opératoires sélectionnées, l'effet de la suppression d'ions ne survient pas aux temps de rétention des composés d'intérêt (fosfomycine et fudosteine, choisie comme étalon interne) (Figure 1). Les défauts de précision et la fidélité déterminés pour la fosfomycine à différentes concentrations sont inférieurs à 15 %. La séparation chromatographique s'effectue en 3,66 min. La limite de quantification de la méthode est fixée à 0,1 µg/ml. La quantification est linéaire ($r^2 : 0,995$) et l'étude statistique de la linéarité (ANOVA), a montré que les variances sont homogènes. La variabilité intra/ inter jours pour toutes les concentrations est inférieure à 15 % (précision intra jour : CV 2,2 %; précision inter jours: CV 4,2 %). La justesse intra jour et inter jours est comprise entre 98 et 100 %. Le coefficient d'extraction obtenu dans le plasma est de 100 %.

Les paramètres pharmacocinétiques de la fosfomycine administrée par voie intraveineuse (en bolus), intramusculaire et orale chez les poulets de chairs sont présentés dans les figures 2, 3 et 4 et dans le tableau I.

Après administration du bolus intraveineux, la demie-vie d'élimination de la fosfomycine chez le poulet de chair est d'environ 1,4 h. Le volume de distribution apparent (V_{darea}) est de l'ordre de 231 ml/kg, alors que sa clairance systémique (Cl) est approximativement 115 ml/h*kg.

Les paramètres pharmacocinétiques associés à la voie intramusculaire et à la voie orale indiquent une biodisponibilité (F) de la fosfomycine d'environ 39,3 % et 82,0% respectivement.

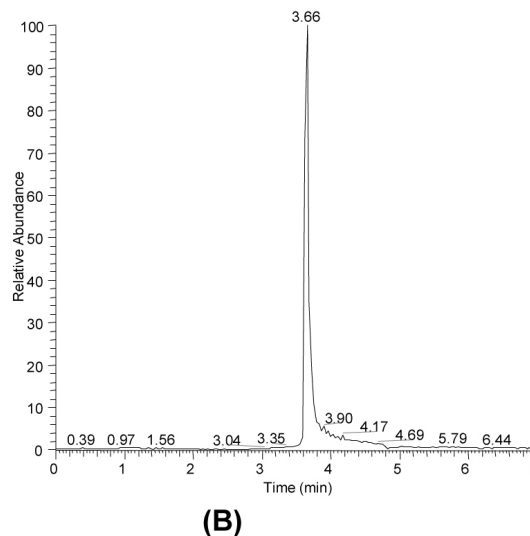
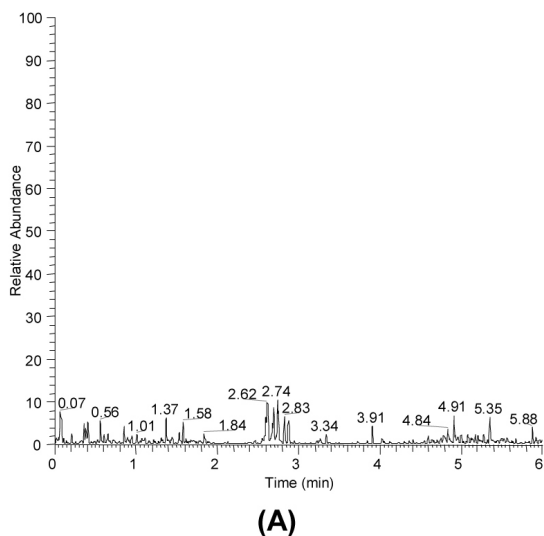


FIGURE 1: Résolution chromatographique chromatographie liquide à haute performance (HPLC) couplée à la spectrométrie de masse en tandem (CLHP-SM/SM). (A) Echantillon de plasma libre d'antibiotiques. (B) Echantillon de plasma supplémenté avec 1 µg/ml de fosfomycine.

Paramètres	IV	Oral	IM
$T_{1/2}$ (h)	1.4	1.3	1.1
$AUC_{(0-C.last)}$ ($\mu\text{g.h/ml}$)	318.0	125.0	65.1
$AUC_{(0-\infty)}$ ($\mu\text{g.h/ml}$)	348.0	128.6	66.7
MRT (h)	2.0	3.0	2.9
Vd (area) ml/Kg	231.0	587.0	264.4
Vss ml/Kg	317.0	-	-
CL ml/kg/hr	115.0	-	-
C_{max} ($\mu\text{g/ml}$)		29.8	20.7
T_{max} (h)		2.0	0.8
F(%)		39.3	82.0

TABLE I: Paramètres pharmacocinétiques de fosfomycine chez le poulet de chair en fonction du type de traitement reçu : bolus intraveineux (IV), oral et intramusculaire (IM). $T_{1/2}$: Temps de demi vie. $AUC_{(0-C.last)}$: Aires sous la courbe concentration – temps, du temps 0 au temps correspondant à la dernière concentration observée. $AUC_{(0-\infty)}$: Aires sous la courbe concentration totale ou à l'infini. MRT: Temps moyen de résidence. Vss: volume de distribution à l'état d'équilibre. Vd area: volume de distribution. CL: Clairance systémique. C_{max} : Concentration sérique maximale après une dose unique (Orale – IM). T_{max} : temps nécessaire pour atteindre la concentration maximale. F %: biodisponibilité.

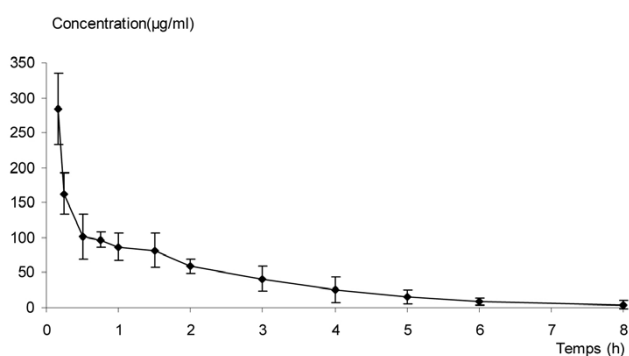


FIGURE 2: Profils plasmatiques (moyenne \pm écart type) de fosfomycine après administration IV de 40 mg/kg chez le poulet de chair.

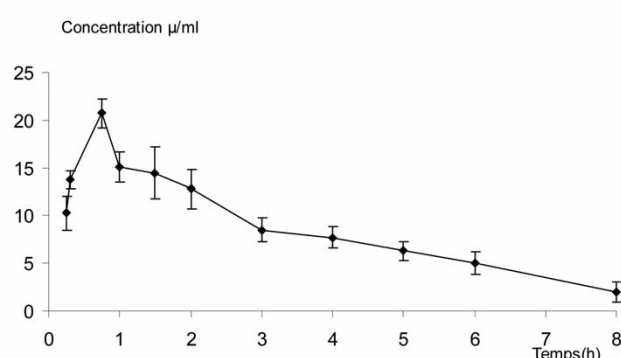


FIGURE 3: Profils plasmatiques (moyenne \pm écart type) de fosfomycine après administration IM de 10 mg/kg chez le poulet de chair.

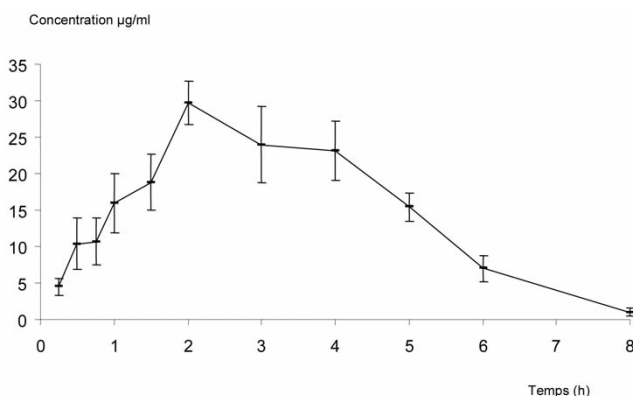


FIGURE 4: Profils plasmatiques (moyenne \pm écart type) de fosfomycine après administration orale de 40 mg/kg chez le poulet de chair.

L'absorption orale de la fosfomycine est plus lente que l'absorption intramusculaire, les concentrations maximales se produisant à 2,0 h et 0,8 h respectivement.

Discussion

La méthode HPLC-SM/SM employée est rapide et spécifique et se montre bien adaptée à l'identification et la quantification de la fosfomycine dans le plasma du poulet de chair. De plus, la limite de quantification a été déterminée à 0,1 $\mu\text{g/ml}$, ce qui est inférieure à celle rapportée par ARAMAYONA *et al* [9] (0,5 $\mu\text{g/ml}$). La biodisponibilité intramusculaire de la fosfomycine (82,0 %) est plus importante que celle trouvée lors de l'administration orale (39,3 %). Ceci peut être associé à une faible solubilité de la formulation de fosfomycine calcique dans le milieu intestinal et/ou à l'adsorption sur des restes d'aliments dans le tube digestif, ce qui a été rapporté

chez d'autres animaux domestiques [17, 8]. Les éléments végétaux, constituant la plus grande partie de l'alimentation des volailles, peuvent séquestrer temporairement ou même de façon définitive certains médicaments [18,19]. Le volume de distribution déterminé pour la fosfomycine lors de l'administration IV est comparable à ceux observés par ARAMAYONA *et al* [9] (575 ml/kg) et par GUTIERREZ *et al* [10] (250-220 ml/kg) chez le poulet, et par d'autres auteurs chez différentes espèces animales [2, 6-8]. La demie-vie d'élimination de la fosfomycine lors de l'administration par voie intraveineuse en bolus est semblable à celle observée lors de l'administration orale et intramusculaire. De plus, elle est similaire à celle rapportée chez le poulet de chair [9, 10] et chez les mammifères [2, 6 - 8]. La clairance de la fosfomycine est approximativement comparable au pourcentage de filtration glomérulaire chez le poulet de chair ($2,1 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{Kg}^{-1}$), et similaire à ce qui est rapporté par ARAMAYONA *et al* [9].

La fosfomycine est typiquement un antibiotique temps-dépendante (% T > CMI) et le temps pendant lequel la concentration demeure maintenue au-delà de la CMI du germe combattu est le meilleur paramètre prédictif de son efficacité [23, 24, 25]. Il est accepté pour certains antibiotiques temps-dépendants que le paramètre le plus prédictif de l'efficacité thérapeutique soit le rapport (AUC)/CMI₉₀ [14, 24]. Par exemple, pour les macrolides et les tétracyclines, le rapport (AUC₀₋₂₄/CMI₉₀) doit atteindre une valeur supérieure à 25 [6, 14, 24]. La fosfomycine produit sur les souches sensibles de *Streptococcus sp.* (CMI₉₀ : 0,25 µg/ml) des valeurs (AUC₀₋₂₄/CMI₉₀) de 996 et 1260 à la dose de 10 et 20 mg/kg respectivement, après administration par voie sous-cutanée chez le cheval [6]. Des rapports plus bas ont été rapportés pour la fosfomycine lors de l'administration par voie intramusculaire (460 et 896 aux doses de 19 et 29 mg/kg respectivement) [6]. Chez les porcelets les valeurs du rapport (AUC₀₋₂₄/CMI₉₀) de fosfomycine ont été de 396 pour *Streptococcus sp.* et 198 pour *E. coli* après administration intramusculaire de 15 mg/kg [8].

La colibacillose, associée aux souches pathogènes d'*Escherichia coli* est une maladie qui affecte souvent les poulets de chair. Chez cette espèce, aucune valeur de rapport (AUC₀₋₂₄/CMI₉₀) n'avait été déterminée pour la fosfomycine. Dans cette étude, les valeurs de AUC₀₋₂₄ obtenues lors de l'administration intramusculaire et orale de fosfomycine ont été de 125 et 65,1 µg.h/ml, respectivement. En considérant une CMI₉₀ = 8 µg/ml pour la fosfomycine sur des souches sensibles de *E. Coli* chez le poulet de chair [10], les rapports AUC₀₋₂₄/CMI₉₀ calculés après administration par voie orale et intramusculaire sont de 15,6 et 8,1 respectivement. Ceci suggère une efficacité thérapeutique insuffisante *in vivo* lors d'une administration quotidienne unique. Pour cette raison GUTIERREZ *et al* [10] ont proposé récemment l'administration d'une dose orale de charge de 40 mg/kg de fosfomycine dans l'eau de boisson suivi d'une nouvelle administration de 40 mg/kg 8 h plus tard (soit 80 mg/kg par jour) pour traitement des souches sensibles de *E.coli*.

En conclusion, cette étude montre que la fosfomycine apparaît comme une bonne option thérapeutique antibactérienne contre les bactéries sensibles si l'on prend en compte la dose et la stratégie d'administration.

Bibliographie

1. - MATA, J., RODRIGUEZ, A., GALLEGO, A.: Fosfomycin: *in vitro* activity. *Chemother.*, 1977, **23**, 23-24.
2. - SUMANO, L.H., OCAMPO, C.L., GUTIERREZ, O.L.: Intravenous and intramuscular pharmacokinetics of a single-day dose of disodium-fosfomycin in cattle, administered for 3 days. *J Vet Pharm Ther.*, 2007, **30**, 49-54.
3. - KAHAN, F.M., KAHAN, J.S., CASSIDY, P.J., KROPP, H.: The mechanism of action of fosfomycin (phosphonomycin). *Ann N Y Acad Sci.*, 1974, **235**, 364-386.
4. - POPOVIC, M., STEINORT, D., PILLAI, S., JOUKHADAR, C.: Fosfomycin: an old, new friend? *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.*, 2010, **29**, 127-142.
5. - LIN, E.C.: Glycerol dissimilation and its regulation in bacteria. *Annu Rev Microbiol.*, 1976, **30**, 535-578.
6. - ZOZAYA, D.H., GUTIÉRREZ, O.L., OCAMPO, C.L., SUMANO, L.H.: Pharmacokinetics of a single bolus intravenous, intramuscular and subcutaneous dose of disodium-fosfomycin in horses. *J Vet Pharm Ther.*, 2008, **31**, 321-327.
7. - GUTIERREZ, O.L., OCAMPO, C.L., AGUILERA, J.R., LUNA, J., SUMANO, L.H.: Pharmacokinetics of disodium-fosfomycin in mongrel dogs. *Res Vet Sci.*, 2008, **85**, 156-161.
8. - SORACI, A. L., PEREZ., D. S. . MARTINEZ G, DIEGUEZ S. . TAPIA, M.O, AMANTO F, HARKES R., ROMANO O.: Plasma behavior study of disodium-fosfomycin and its bioavailability in post weaning piglets. *Res Vet Sci.*, 2010, in press.
9. - ARAMAYONA, J.J., BREGANTE, M.A., SOLANS, C., RUEDA, S., FRAILE, L.J., GARCIA, M.A.: Pharmacokinetics of fosfomycin in chickens after a single intravenous dose and tissue levels following chronic oral administration. *Vet Res.*, 1997, **28**, 581-588.
10. - GUTIERREZ L., OCAMPO L., ROSARIO C., SUMANO H.: Pharmacokinetics of disodium fosfomycin in broilers and dose strategies to comply with its pharmacodynamics versus *Escherichia coli*. *Poult Sci.*, 2010, **89**, 2106-2115.
11. - ALIABADI, F.S., LEES, P.: Pharmacodynamic and pharmacokinetic inter-relationships of antibacterial drugs. *J Vet Pharm Ther.*, 1997, **20**, 14-17.
12. - MOUTON, J.W., DUDLEY, M.N., CARS, O.: Standardization of pharmacokinetic/pharmacodynamic (PK/PD) terminology for anti-infective drugs: an update. *J Antimicrob Chemother.*, 2005, **55**, 601-607.
13. - MUELLER, M., DE LA PEÑA, A., DERENDORF, H.: Issues in pharmacokinetics and pharmacodynamics of anti-infective agents: Kill curves versus MIC. *Antimicrob Agents Chemother.*, 2004, **48**, 369-377.
14. - TOUTAIN, P.L., DEL CASTILLO, R.E., BOUSQUET-MELOU, A.: The pharmacokinetic-pharmacodynamic approach to a rational dosage regimen for antibiotics. *Res Vet Sci.*, 2002, **73**, 105-114.
15. - LI, L., CHEN, X., DAI, X., HUI CHEN, M., ZHONG, D.: Rapid and selective liquid chromatographic/tandem mass spectrometric method for the determination of fosfomycin in human plasma. *J Chrom B.*, 2007, **856**, 171-177.
16. - DIEGUEZ, S., SORACI, A. L., TAPIA, O., CARCIOCHI, R., PÉREZ, D., HARKES, R., ROMANO, O.: Determination of Antibiotic Fosfomycin In Chicken Serum by Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry. *J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol.*, 2011, **34**, 116-128.
17. - BAGGOT, D.: Principles of drug disposition in domestic animals. In: Baggot, D. (Ed.), *The Basics of Veterinary Clinical Pharmacology*. W.B. Saunders, Philadelphia, PA, 1977, pp. 1-22.
18. - DEL CASTILLO J., ROY J.J., MESSIER S., HIGGINS R., BESNER J.G., MARTINEAU G.P. : Métaphylaxie de *Streptococcus suis* chez le porcelet sévère avec l'amoxiciline orale. Résultats pharmacocinetiques et pharmacodynamiques. *Journées Rech Porcine en France*, 1998, **30**, 411-416.
19. - NIELSEN P., GYRD-HANSEN N.: Bioavailability of oxytetracycline, tetracycline and chlortetracycline after oral administration to fed and fasted pigs. *J Vet Pharmacol Ther.*, 1996, **19**, 305-311.
20. - BORSA, F., LEROY, A., FILLASTRE, J.P., GODIN, M., MOULIN, B. : Comparative pharmacokinetics of tromethamine fosfomycin

- and calcium fosfomycin in young and elderly adults. *Antimicrob Agents Chemother*, 1988, 938-941.
21. - GALLEGO, A., RODRIGUEZ, A., MATA, J.M., Fosfomycin: pharmacological studies. *Drugs Today*, 1974, **10**, 161-168.
 22. - FERNANDEZ, P., HERRERA, I., MARTINEZ, P., GÓMEZ, L., PRIETO, J.: Enhancement of the susceptibility of *Staphylococcus aureus* to phagocytosis after treatment with fosfomycin compared with other antimicrobial agents. *Chemother.*, 1995, **41**, 45-49.
 23. - FERNÁNDEZ, C., MARIÑO, E.L., DOMINGUEZ-GIL, A.: Phosphomycin levels in serum and interstitial tissue fluid in a multiple dosage regimen in rabbits. *Arzneimittelforschung*, 1987, **37**, 927-929.
 24. - MCKELLAR, Q.A., SANCHEZ BRUNI, S.F., JONES, D.G.: Pharmacokinetic / pharmacodynamic relationships of antimicrobial drugs used in veterinary medicine. *J Vet PharmTher.*, 2004, **27**, 503-514.
 25. - TOUTAIN, P.L. BOUSQUET-MELOU, A. AND MARTINEZ, M.: AUC/MIC: a PK/PD index for antibiotics with a time dimension or simply a dimensionless scoring factor? *J Antimicrob Chemother.*, 2007, 1-4.