

## USO RAZIONALE DEGLI ANTIBIOTICI E ANTIBIOTICO RESISTENZA

DAVID G S BURCH

*Octagon Services Ltd, Old Windsor, Berkshire, UK*

**Parole chiave:** Antibiotici, Resistenza, Suini

**Sommario:** Ogni qual volta si usano degli antimicrobici, c'è sempre il rischio di selezione della resistenza antimicrobica. Alcune specie di batteri sembrano sviluppare tale resistenza più velocemente di altre, ad esempio *Escherichia Coli* e per alcuni antimicrobici, ad es. le tetracicline, lo sviluppo della resistenza avviene in modo molto semplice. Il primo approccio adottato è ridurre o evitare l'uso di antimicrobici impiegando animali in ottima salute (esenti da germi patogeni specifici o "SPF"), utilizzando programmi di eradicazione di patologie o vaccinazioni ovunque possibile, e utilizzando inoltre strategie per ridurre il rischio infettivo. Quando si è costretti ad utilizzare antimicrobici, è opportuno seguire programmi di impiego ottimali per ridurre il rischio di sviluppo di resistenza. Assicuratevi di applicare la terapia all'organismo giusto, utilizzando culture e test di suscettibilità antimicrobica e anche impiegando le giuste conoscenze in merito alle concentrazioni di farmaco necessarie ad uccidere l'organismo nei tessuti o fluidi da esso infestati. Comprendere la farmacocinetica degli antimicrobici è fondamentale così come mettere in relazione tali dati con gli effetti farmacodinamici sui batteri per ottenere non solo una cura clinica ma anche una batterica. Andare oltre la finestra di selezione dei mutanti aiuta inoltre a migliorare gli effetti clinici a lungo termine di un antimicrobico e riduce lo sviluppo della resistenza. Il presente articolo esamina le strategie che aiutano a ridurre lo sviluppo della resistenza nella produzione dei suini utilizzando l'integrazione e l'applicazione farmacocinetica/farmacodinamica.

### INTRODUZIONE

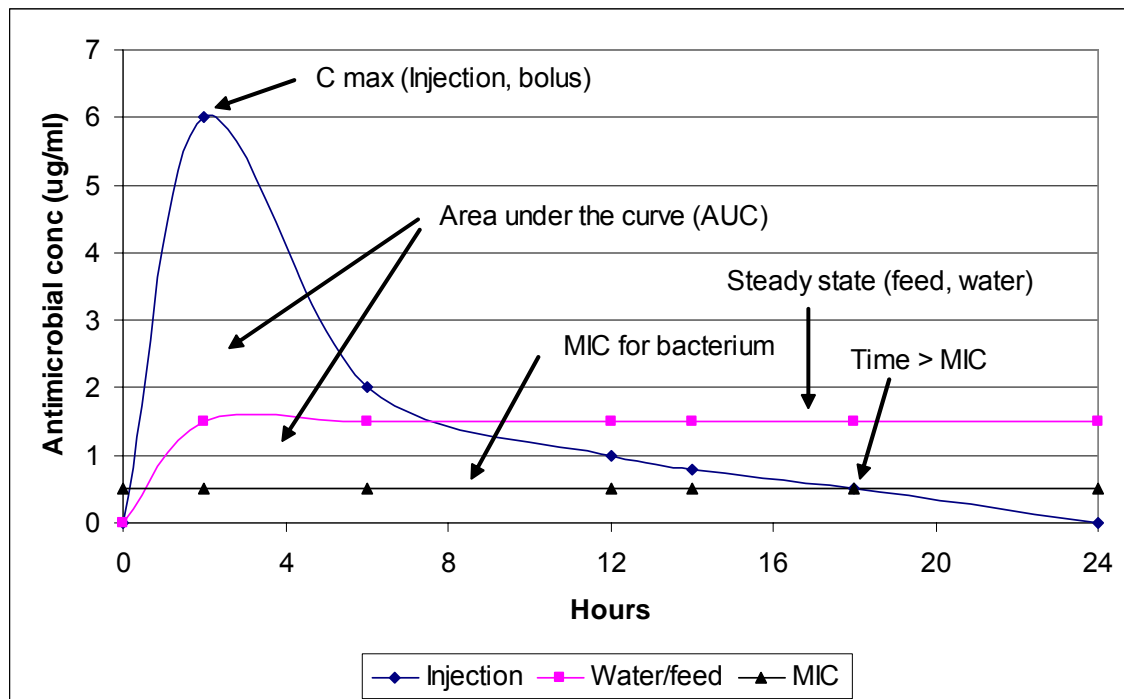
Ogni qual volta si usano degli antimicrobici, c'è sempre il rischio che si verifichi la selezione della resistenza antimicrobica. Nel Regno Unito, recenti statistiche (VMD, 2008) mostrano che nel 2007 sono state usate 387 tonnellate di farmaci antimicrobici, sia per animali da allevamento che da compagnia. L'ottantanove per cento di tale quantità è stato somministrato per via orale, principalmente insieme a mangimi premix o come medicine disciolte nell'acqua potabile e solo il 10% per iniezione. Le tetracicline sono l'antibiotico usato più di frequente (45%) seguite da combinazioni di trimetoprim/sulfonamidi (19%) e dagli antibiotici beta-lattami (penicilline, penicilline sintetiche etc.) al 17%. Le cefalosporine e i fluoroquinoloni, considerati di importanza fondamentale nella medicina umana sono usati rispettivamente nel 1,6% e 0,5% dei casi negli animali, una percentuale molto bassa. Si stima che l'uso di antimicrobici nei suini copra il 53% dell'uso complessivo di tali farmaci, nonostante il fatto che nel Regno Unito vengano macellati solo 9 milioni di suini l'anno. Ne consegue che il veterinario dei suini è responsabile dell'uso accorto e giudizioso dei farmaci antimicrobici per ottenere i migliori risultati a livello clinico, batteriologico ed economico per i suoi clienti, per provare a limitare lo sviluppo della resistenza antimicrobica nella popolazione suina ma anche per ridurre le possibilità di diffusione della resistenza nella popolazione umana.

Il presente articolo esamina lo stato della conoscenza della farmacocinetica (PK) nei suini, e le informazioni di farmacodinamica (PD) che possono essere sviluppate nei laboratori clinici e universitari, nonché il modo in cui i due possano essere integrati così che uso, dosaggio e via di somministrazione degli antibiotici e le possibilità di evitare lo sviluppo di resistenza possano essere incluse nei processi decisionali relativi all'uso antimicrobico.

## RELAZIONI DI BASE TRA PK E PD

### a. Aspetti farmacocinetici

La comprensione di base della farmacocinetica dei prodotti medici è fondamentale per comprendere il modo in cui gli stessi funzionano nel maiale (Fig. 1)



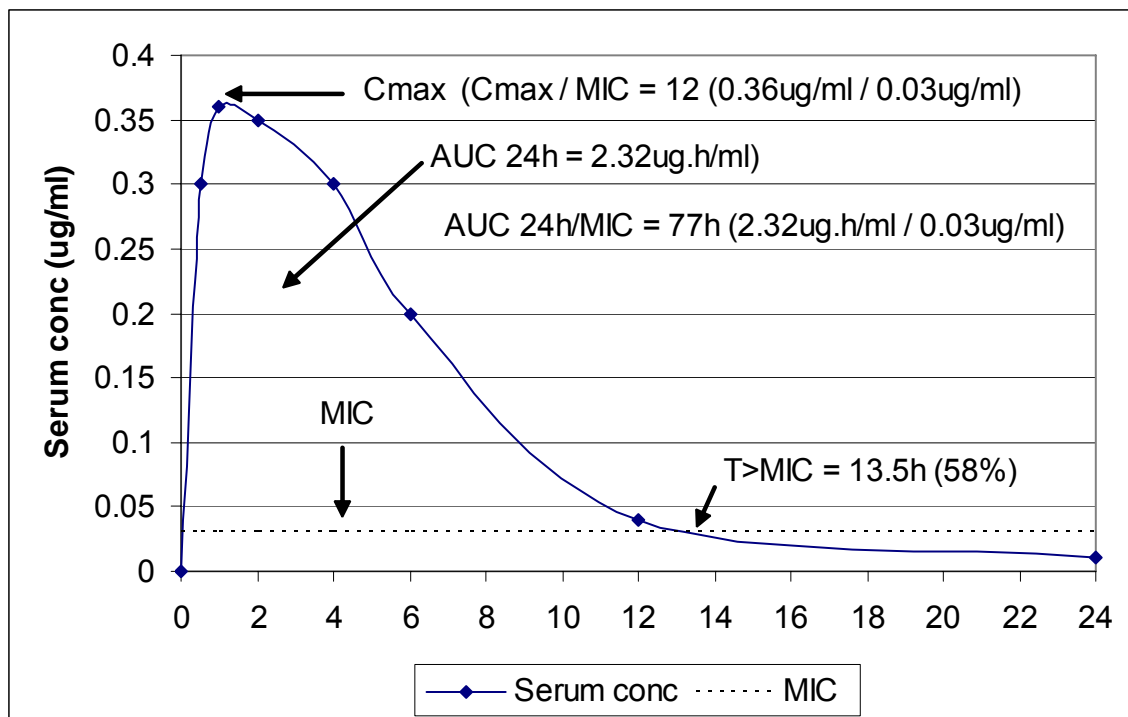
**Fig. 1.** Confronto tra la farmacocinetica di base di un antibiotico somministrato per iniezione, o per via orale nel mangime o nell'acqua

La concentrazione massima ( $C_{max}$ ) è la concentrazione plasmatica più alta riscontrata dopo la somministrazione. Generalmente, in caso di somministrazione per iniezione si ha un picco molto alto che poi scende gradualmente. Il tempo necessario per raggiungere il picco di concentrazione è detto  $T_{max}$ . Per i farmaci somministrati per via orale i picchi sono in genere molto più bassi e  $T_{max}$  è più lungo ma in caso di alimentazione *ad libitum*, i livelli di plasma possono rimanere decisamente stabili durante il giorno. È inoltre possibile misurare le curve di concentrazione e anche l'area sotto la curva nel periodo di 24 ore (ASC 24h) è una misurazione piuttosto utile. Il declino della curva, se confrontato con la concentrazione minima inibitoria (MIC) inoltre indica il periodo di tempo in cui la curva si trova sopra alla MIC ( $T > MIC$ ), che è particolarmente utile per la

determinazione dell'intervallo di dosaggio, vale a dire se un farmaco deve essere somministrato una, due o più volte al giorno etc.

Il rapporto  $C_{max}/MIC$  è importante per alcuni farmaci antimicrobici quali aminoglicosidi (apramicina, gentamicina, ecc.) e anche fluoroquinoloni (enrofloxacin, marbofloxacin ecc.) in quanto è stato mostrato (Schentag, 2000) che quando il rapporto  $C_{max}/MIC$  è di circa 10-12 è perché l'uccisione del batterio ha avuto successo e i risultati clinici nei pazienti immunocompromessi negli ospedali sono migliori. La MIC è simile alla concentrazione battericida minima (MBC) per questi farmaci antimicrobici e il rapporto  $MBC/MIC = 1-2: 1$ . Essi inoltre mostrano un buon effetto post-antibiotico (EPA) vale a dire che il batterio non ha ripreso a crescere per qualche tempo dopo la rimozione dell'antibiotico. La Colistina, una polimixina, rientra in questa categoria.

L'ASC 24h è anche un parametro PK utile per i farmaci battericidi, in quanto prevede una componente di tempo e concentrazione, specialmente per i farmaci iniettabili in presenza di una fluttuazione di concentrazione. Un rapporto  $ASC\ 24h/MIC$  di 100-120 fornisce una previsione utile della uccisione batterica effettuata dai farmaci antimicrobici battericidi quali aminoglicosidi e fluoroquinoloni, combinazioni trimetoprim/sulfonamidi e beta-lattami (penicilline e cefalosporine), anch'essi parte di questo rapporto. La componente Tempo  $>MIC$  viene spesso considerata maggiormente importante per gli antibiotici beta-lattami (Lees et al, 2008) anche se è presente anche un aumento del tasso di abbattimento a concentrazioni più elevate. Gli antibiotici tempo- e concentrazione-dipendenti sono detti co-dipendenti e molti antibiotici usati nella cura dei suini hanno questo tipo di rapporto (Fig 2).



**Fig. 2.** esempio di rapporto di integrazione PK/PD per l'enrofloxacin e la *Pasteurella multocida* ( $MIC\ 0,03\ \mu g/ml$ ) (Lees & Aliabadi, 2002)

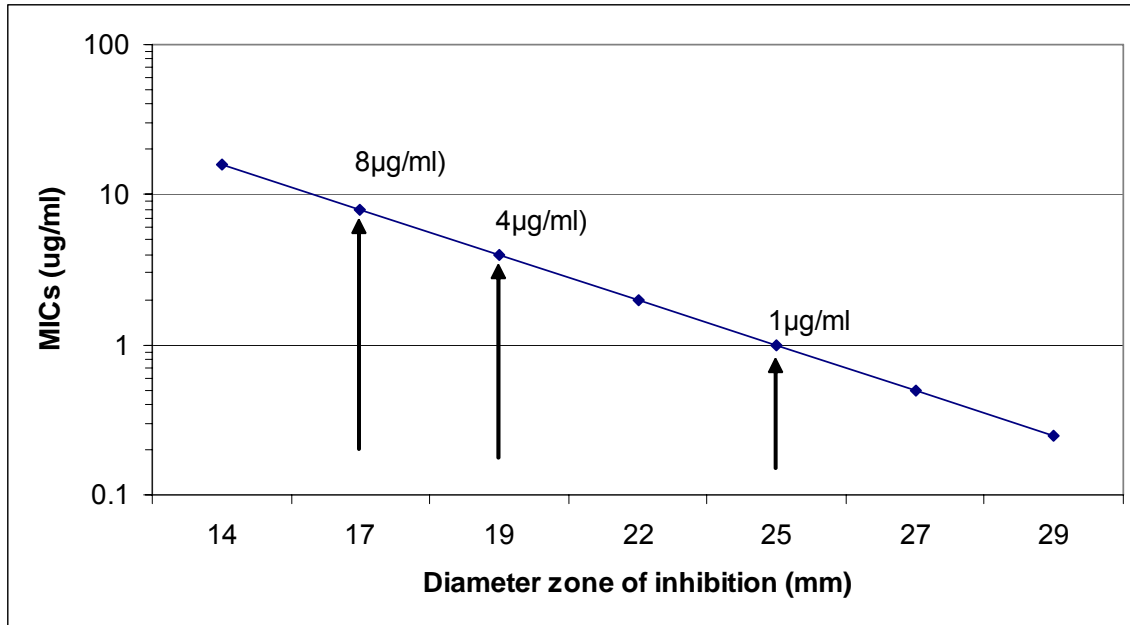
Se il rapporto ASC 24h/MIC viene suddiviso nelle 24 ore risulta circa 4-5 volte superiore rispetto alla MIC e rappresenta un altro rapporto utile per concentrazioni antimicrobiche riscontrate nel contenuto del plasma o delle viscere dopo la somministrazione per via orale. Queste concentrazioni sono concentrazioni allo stato quasi stazionario (SS) e sono pertanto utili per i riferimenti incrociati a concentrazioni in singoli time-point come quelle nei polmoni.

Per quanto riguarda gli antibiotici batteriostatici quali tetracicline, macrolidi, lincosamidi e pleuromutilini, il rapporto ASC 24h/MIC fornisce un punto di riferimento per l'inibizione o per un effetto batteriostatico, ad esempio  $ASC\ 24h/MIC = 24h$ . Tuttavia, per ottenere un effetto battericida, l'ASC 24h deve essere diviso per il MBC in modo che possa essere molto diverso da MIC ad es. rapporto  $MBC/MIC = 2-40$ : N° 1).

#### **b. Aspetti farmacodinamici - test di suscettibilità antimicrobica**

Ci sono diversi metodi per determinare la suscettibilità di un organismo ad un antibiotico. Il Clinical and Laboratories Standards Institute (CLSI – precedentemente noto come NCCLS) è intento a stabilire procedure fisse e riproducibili da diversi laboratori in tutto il mondo, nonché ad unificare gli standard. Molti laboratori utilizzano i propri metodi di coltura e valutazione della suscettibilità per i batteri, mezzi che possono dare risultati diversi; per questo motivo è in corso di sviluppo un approccio standardizzato, anche se il processo è continuativo e non ancora finalizzato per tutti i batteri veterinari e i farmaci antimicrobici veterinari.

Uno dei metodi più comunemente utilizzati nei laboratori di clinica veterinaria è il metodo Kirby-Bauer con dischetti di sensibilità contenenti un preparato antibiotico di forza nota, che vengono posizionati su piastre da coltura in cui l'organismo sta crescendo. La sensibilità viene giudicata esaminando visivamente le dimensioni della zona di inibizione che indicano, approssimativamente, se il prodotto è sensibile, mediamente resistente o totalmente resistente. Ad ogni modo, una tecnica relativamente semplice di misurazione della zona può anche fornire un maggior quantitativo di informazioni sulla MIC dell'organismo mettendolo in relazione con degli appositi grafici e confrontando le dimensioni delle zone con la MIC (Fig. 3). Quanto sopra fa parte anche del lavoro svolto dal CLSI.



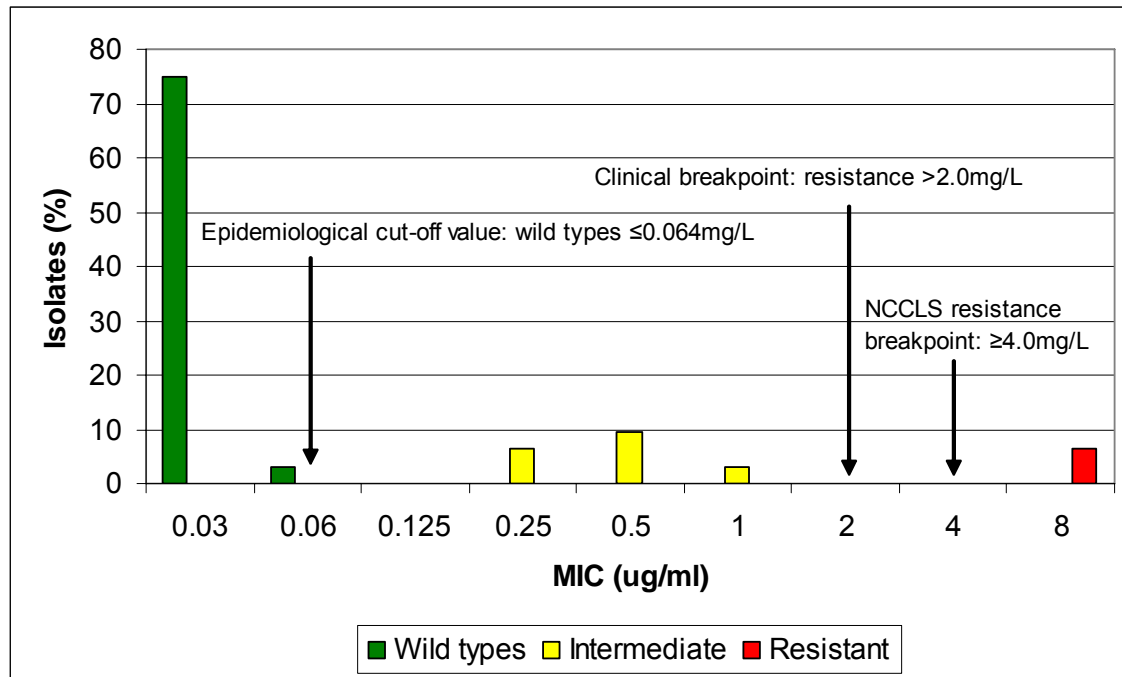
**Fig. 3.** Diametro della zona di inibizione e MIC Per tiamulina e *A. pleuropneumoniae* (Casals et al, 1990)

Le concentrazioni inibitorie minime vengono calcolate in genere utilizzando diluizioni a raddoppio di antibiotici per determinare la concentrazione che inibisce la crescita dell'organismo. Ciò può essere effettuato in provette con brodo di coltura, microprovette su piastre e piastre di agar contenenti l'antibiotico. Possono verificarsi variazioni e imprecisioni, ad esempio raddoppiare la diluizione significa produrre una variazione del 50% tra diluizioni distinte. Questo problema può essere superato utilizzando diluizioni sovrapposte ma ciò non viene sempre fatto. Più di recente, sono state messe in evidenza ulteriori limitazioni delle tecniche standard di coltura utilizzate, che non sempre rappresentano fedelmente la crescita dell'organismo nel plasma o in analoghi fluidi corporei extracellulari perché altri fattori, quali le proteine, possono svolgere un ruolo. Questo è uno dei punti deboli del sistema CLSI per alcuni dei patogeni dell'apparato respiratorio quali *A. pleuropneumoniae*, venuti alla luce di recente, che rende impossibile effettuare integrazioni PK/PD affidabili per alcuni antibiotici quali tulatromicina, tilmicosina e tiamulina, in cui la MIC supera notevolmente la concentrazione del plasma.

### c. Pattern di suscettibilità e breakpoint

Quando le MIC di un antibiotico per una data specie batterica sono state stabilite, vengono in genere indicate MIC 50, MIC 90 e Range. MIC 50 e MIC 90 sono le concentrazioni di antibiotico che inibiscono rispettivamente il 50% e il 90% delle colture isolate, mentre il range indica le concentrazioni minima e massima. Tali parametri sono utili per avere un'idea generica della suscettibilità ad un antibiotico ma devono essere inquadrati nel contesto relativo alla concentrazione antimicrobica ottenibile nel plasma o nei contenuti delle viscere, ad esempio, per determinare quali siano i breakpoint clinici di un dato batterio e dell'antibiotico.

Bywater et al (2006) descrive il nuovo concetto di Valore di Soglia (Cut-Off) Epidemiologica (ECOV) o breakpoint "selvatico" per popolazioni batteriche non esposte ad antibiotici e lo confronta con il breakpoint clinico raggiungibile con i farmaci e inoltre con il breakpoint microbiologico, breakpoint che può essere diverso e addirittura più alto (Fig. 4). Nello studio sono stati usati ciproflaxina ed *E. coli* come esempio.

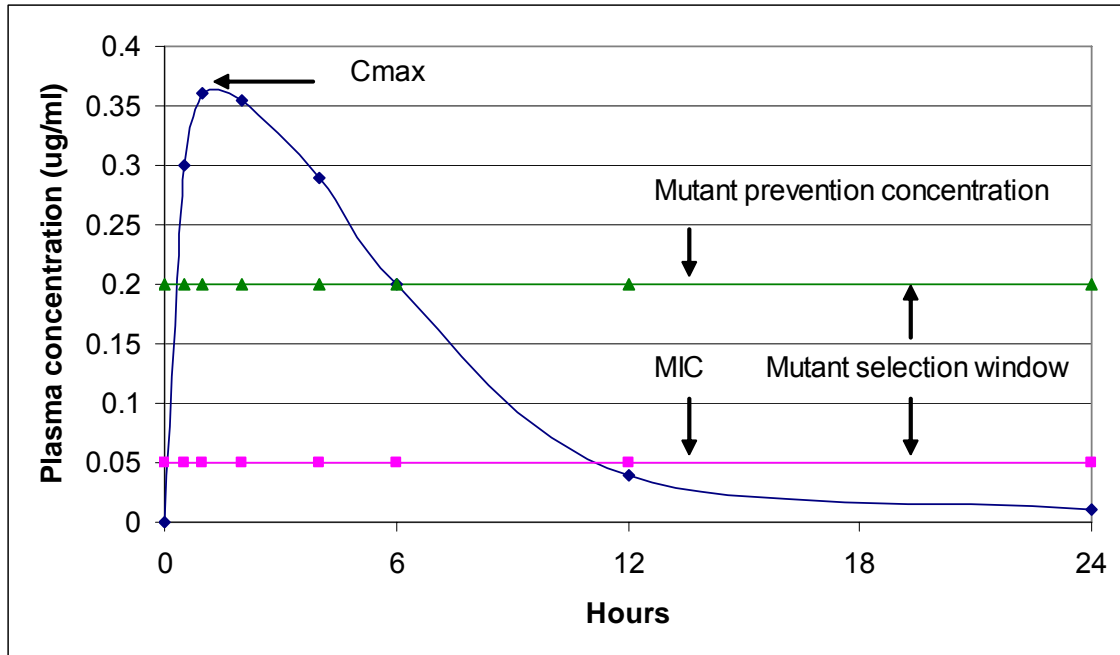


**Fig. 4.** Nuovi concetti – determinazione dei diversi breakpoint (Bywater et al, 2006)

È presente un primo cluster distinto di isolati, che rappresenta i ceppi selvatici. Il secondo cluster rappresenta il primo stadio mutante, resistente all'acido nalidissico ma suscettibile ad elevati livelli di ciprofloxacina e il terzo cluster viene considerato realmente resistente solo dopo la seconda mutazione.

Per alcuni antibiotici la resistenza si sviluppa in un'unica soluzione (come l'acido nalidissico) e quindi il pattern di suscettibilità può indicare come si sviluppa la resistenza e anche, in modo più preciso e più agevolmente rispetto alla MIC50 o MIC90, la percentuale di isolati che rimane sensibile o ha sviluppato la resistenza.

Le mutazioni nei batteri si verificano spontaneamente alla velocità di  $10^6 - 10^{10}$  per generazione di geni. Drlica (2003) ha descritto il concetto di utilizzo degli antibiotici a concentrazioni superiori dopo il primo stadio di mutazione, in modo da uccidere sia i "selvatici" che i mutanti di primo stadio, ritenendo il verificarsi di una doppia mutazione un evento improbabile. I concetti di finestra di selezione dei mutanti e concentrazione di prevenzione delle mutazioni (MPC) sembrano offrire un approccio efficace alla riduzione dello sviluppo della resistenza per alcuni antibiotici (Fig. 5).



**Fig. 5.** Diagramma della finestra di selezione dei mutanti e della concentrazione di prevenzione delle mutazioni in rapporto alla MIC

Un esempio di questo fenomeno in veterinaria è l'enroflaxicina usata per le infezioni di *E. coli* nei suinetti. Wiuff et al (2002) hanno misurato le concentrazioni di enrofloxacin nel plasma e nel contenuto delle viscere dopo la somministrazione per via orale ai suinetti al dosaggio di 2,5 mg/kg di peso corporeo. Quando questo dato viene confrontato con i pattern di suscettibilità alla MIC dell'*E. coli*, è possibile rilevare le concentrazioni nel segmento digiuno che uccidono non solo i ceppi selvatici ma anche i mutanti di primo stadio (Fig. 6).

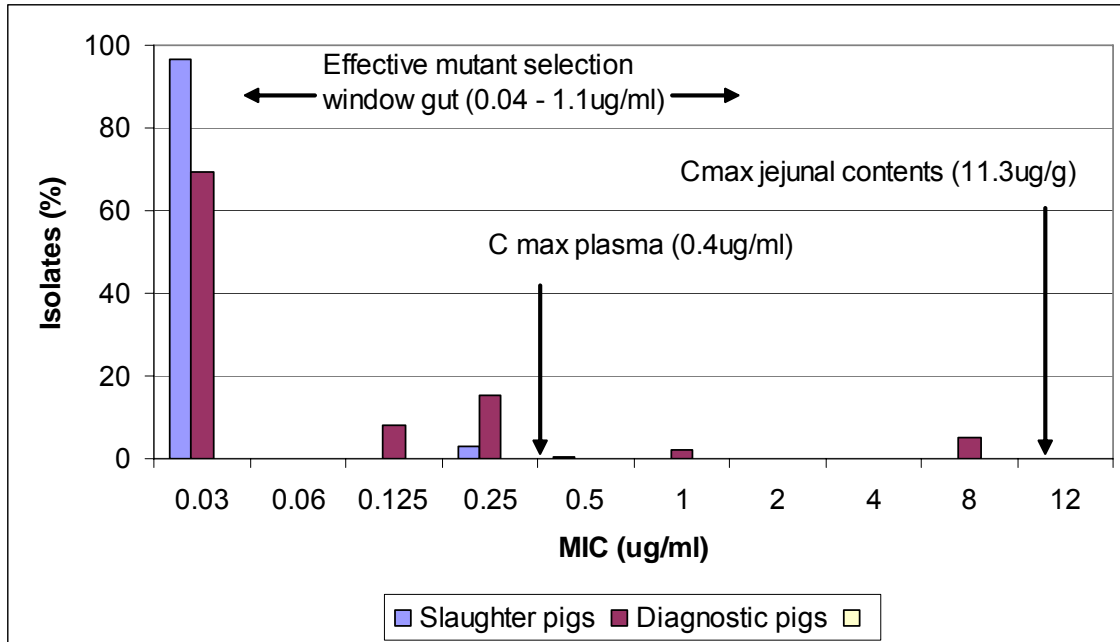
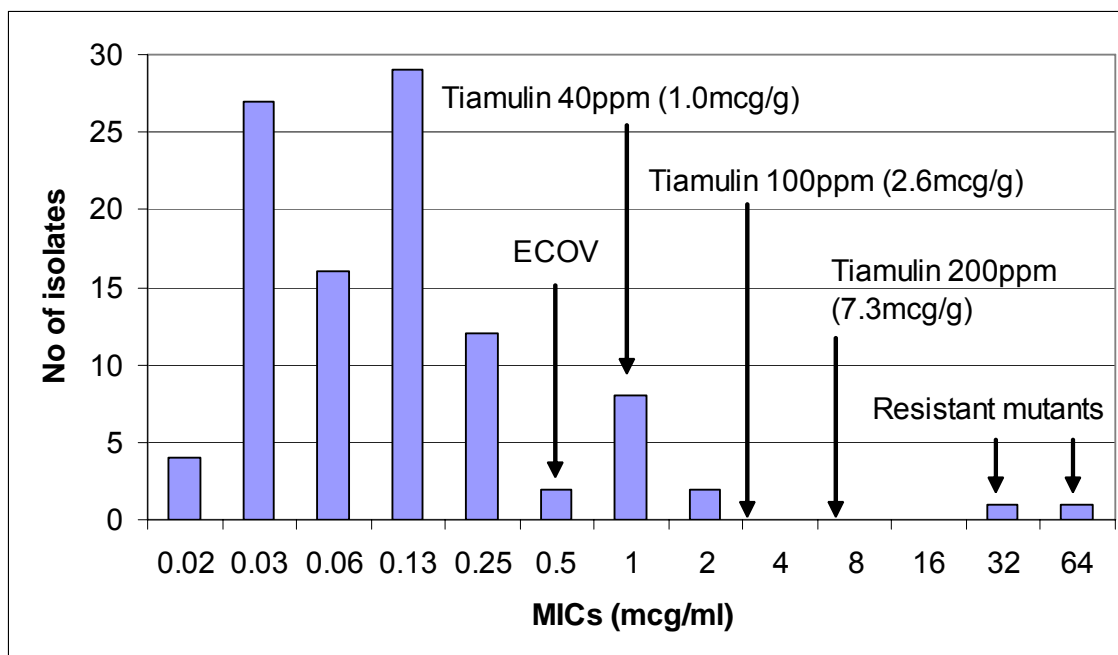


Fig. 6. Finestra di selezione dei mutanti nel contenuto del digiuno dopo la somministrazione orale dell'enrofloxacin usata contro l'*E. coli* nei suini

Tanto maggiore la concentrazione è superiore all'MPC tanto minore è la probabilità che la crescita di un mutante nella popolazione sia eccessiva in quanto lo stesso viene inibito o distrutto. L'arricchimento in mutanti avviene al di sopra della MIC, vale a dire nella finestra di selezione dei mutanti, ma non al di sotto della MIC.

La concentrazione di tiamulina nel colon, quando il preparato viene usato ad alti livelli per la cura della dissenteria suina (Anderson et al, 1994), è in grado di superare anche le concentrazioni di prima mutazione di *brachyspira hyodysenteriae* (Fig. 7).





**Fig. 7.** Concentrazione di tiamulina nel contenuto del cieco in rapporto al pattern di suscettibilità della MIC quando il farmaco è utilizzato contro il *B. hyodysenteriae*.

La capacità della tiamulina di uccidere i batteri suscettibili e i mutanti di primo stadio può essere una spiegazione del perché il farmaco abbia mantenuto molta della sua attività contro il *B. hyodysenteriae* nel corso degli ultimi 30 anni.

Qualora non sia possibile mantenere le concentrazioni antimicrobiche al di sopra della MPC, un altro approccio usato nella medicina non veterinaria è utilizzare combinazioni di farmaci che agiscono sull'organismo in modi differenti. È da considerarsi improbabile che l'organismo sotto terapia sviluppi resistenza a due diversi antibiotici allo stesso momento. L'uso di penicilline e aminoglicosidi è piuttosto comune, si pensi a penicillina e streptomina spesso utilizzati in veterinaria, a piperacillina e gentamicina per infezioni di Pseudomonadi negli umani e, di recente, meropenem e tobramicina (Tam et al, 2005).

#### **d. Approccio terapeutico e rischio di sviluppo del mutante**

Tali concetti possono essere utilizzati per confrontare gli approcci terapeutici e il relativo rischio di sviluppo mutante (Tabella 1).

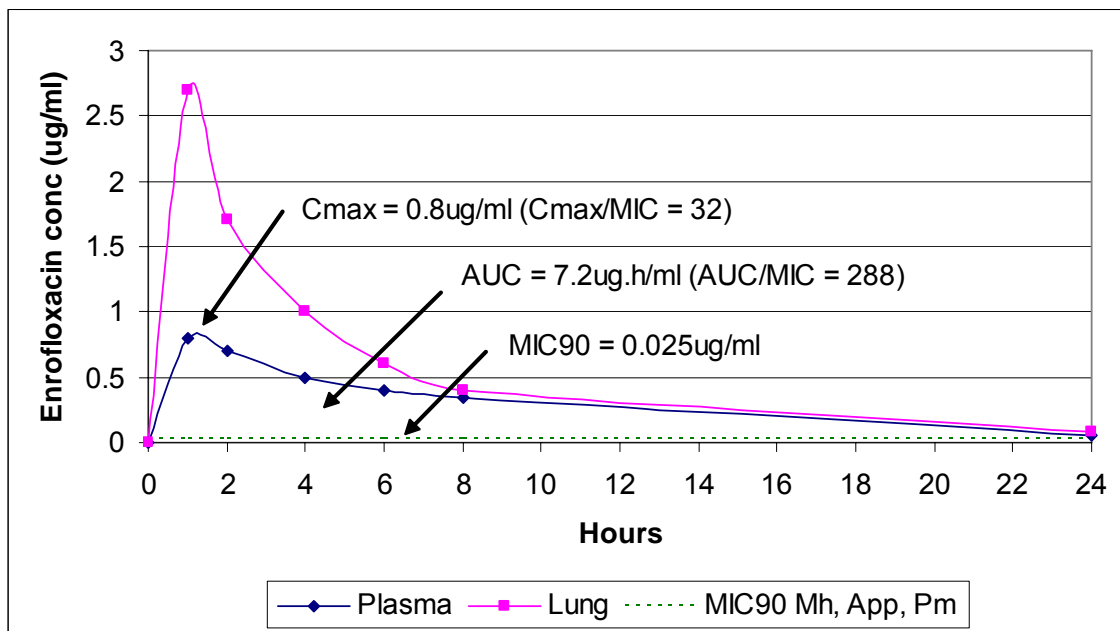
**Tabella 1.** Approccio terapeutico e confronto tra i rischi di sviluppo del mutante

Approccio	Quantità di batteri	Finestra di selezione dei mutanti	Rischio di mutazione
Livello di prevenzione (basso dosaggio)	Bassa <math>10^6</math>	Nel (frequente uso prolungato)	Media
Metafilassi (alto dosaggio)	Bassa <math>10^6</math>	In Sopra	Bassa Molto bassa

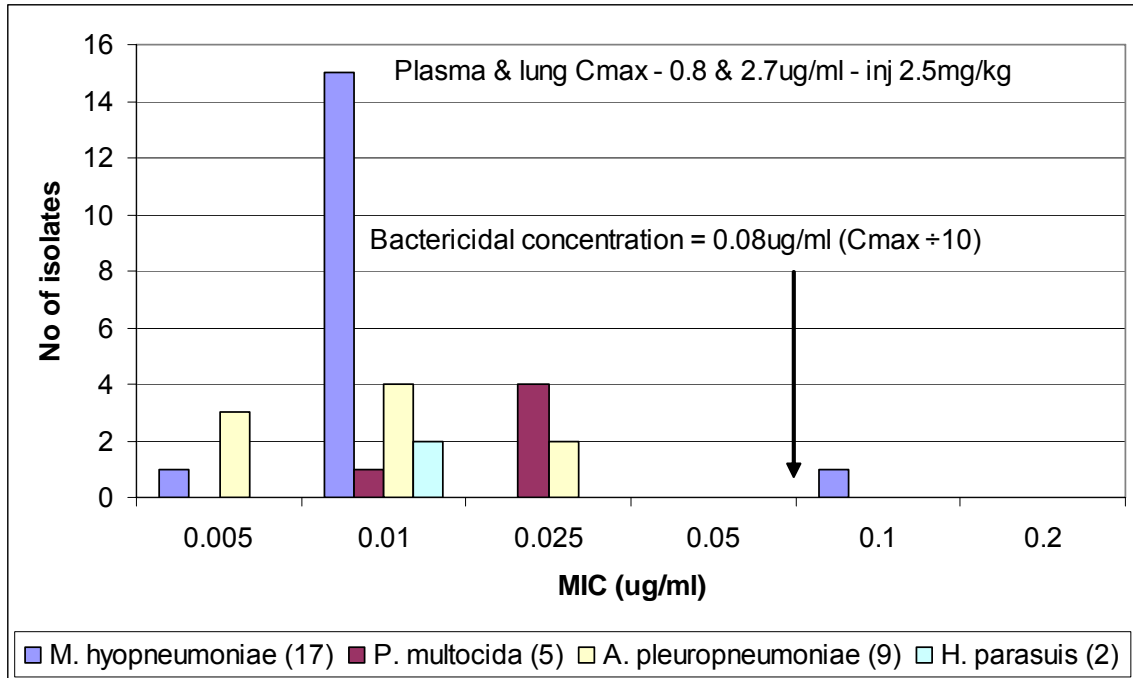
Trattamento (alto dosaggio)	Alta $>10^6$	In Sopra	Alta Media
Combinazione	Alta $>10^6$	In Sopra	Bassa (doppia mutazione) Molto bassa

### e. Incongruenze con l'integrazione PK/PD

In alcuni casi è stato difficile ricorrere all'integrazione PK/PD per valutare l'efficacia di alcuni farmaci antimicrobici, in particolare quelli per batteri dell'apparato respiratorio. Quando l'enrofloxacin venne introdotta per la prima volta, la MIC per gli isolati di *M. hyopneumoniae*, *P. multocida*, *A. pleuropneumoniae* e *H. parasuis* era  $\leq 0,025\mu\text{g/ml}$  (Hannan et al, 1989). La PK nel Plasma (Scheer, 1987) e l'integrazione con la PD rientrano nei criteri descritti in precedenza (Fig. 8 & 9) e anche se l'enrofloxacin si concentra effettivamente nel tessuto polmonare in una certa misura, la concentrazione nel plasma sembra essere comunque il parametro più critico per gli aspetti relativi alla PK.



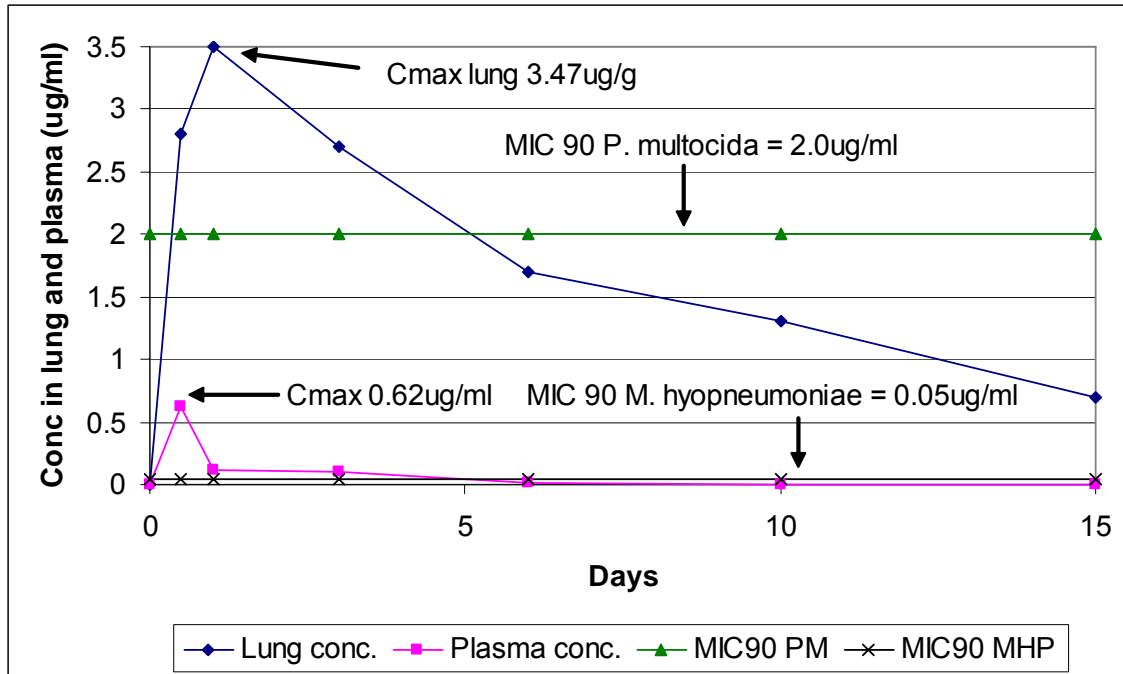
**Fig. 8.** Curve di PK nel plasma e nei polmoni per enroflaxicina e integrazione PK/PD per gli organismi respiratori



**Fig. 9.** Rapporto della Cmax dell'Enrofloxacin con la MIC per i patogeni delle vie respiratorie

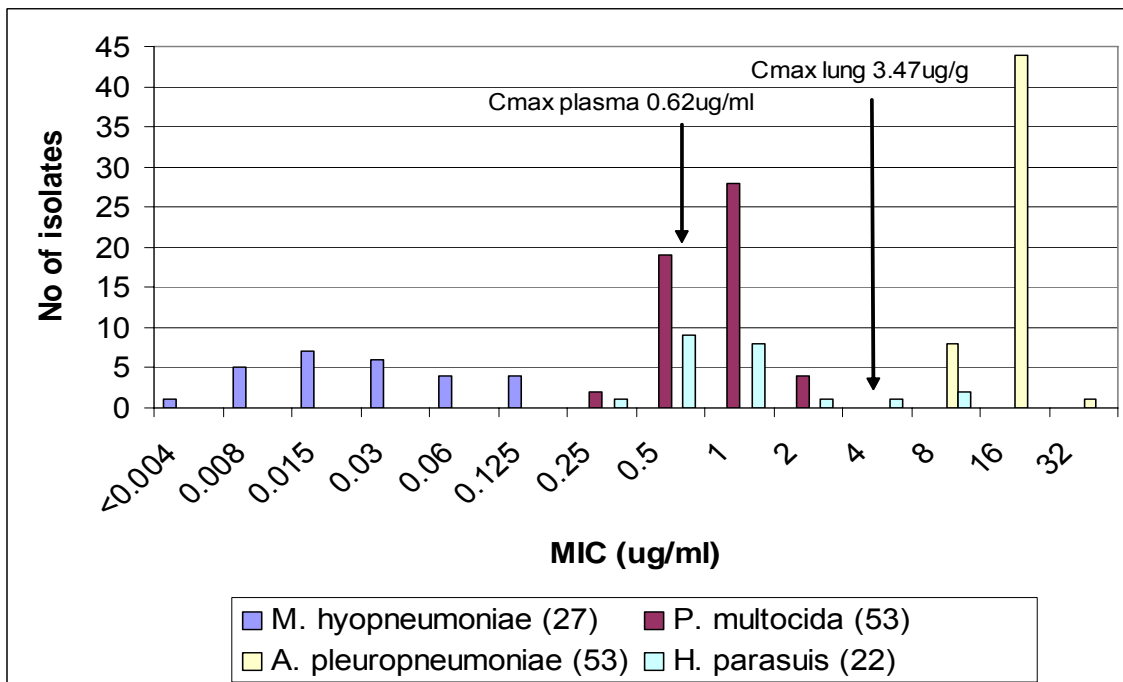
La maggioranza dei patogeni delle vie respiratorie può essere eliminata efficacemente con un'iniezione di dosaggio 2,5 mg/kg peso corporeo, in quanto la Cmax / 10 è 0,08 µg/ml, ben superiore alla MIC di 0,025 µg/ml.

Con la tulatromicina il quadro che si ottiene è differente. Benchaoui et al, 2004 descrive la PK della tulatromicina nei suini dopo una iniezione con dosaggio di 2,5 mg/kg. Il profilo della PK è significativamente differente da quello dell'enrofloxacin per quanto riguarda la durata delle attività (giorni) e la relativa concentrazione nel plasma e nel tessuto polmonare (Fig. 10).



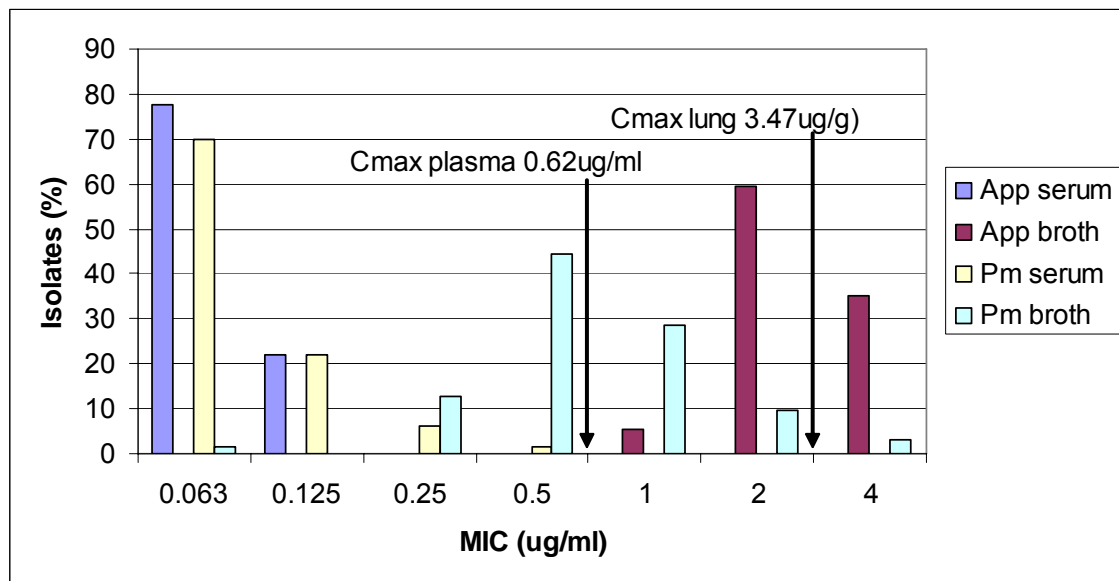
**Fig 10.** Curve di PK nel plasma e nei polmoni per tulatromicina e MIC 90 per *M. hyopneumoniae* e *P. multocida*

C'è una sostanziale differenza nei MIC 90 di *M. hyopneumoniae* e *P. multocida*. Quando gli altri batteri delle vie respiratorie sono stati esaminati c'erano differenze ancora più significative, specialmente per l'*A. pleuropneumoniae* (Godinho, 2008; Godinho et al, 2005), contro cui il farmaco è attivo in vivo (Fig. 11).



**Fig. 11.** Confronto tra i MIC per la tulatromicina utilizzata contro diversi patogeni delle vie respiratorie

Quando i batteri vengono testati con i test standard CLSI per gli organismi respiratori, si ottengono livelli di MIC molto alti. In queste circostanze si è fortemente tentati di osservare altri parametri PK, come concentrazione nei polmoni e concentrazione dei macrofagi per tali antibiotici. Tali parametri sono stati descritti per la tilmicosina (Stoker et al, 1996) e anche per la tiamulina (Burch & Klein, 2008) per spiegare l'integrazione PK/PD. Tuttavia, quando vengono utilizzati metodi non-CSLI che incorporino un quantitativo di siero nel mezzo usato per la cultura molto più basso, si ottengono probabilmente MIC maggiormente rappresentative (Fig. 12).



**Fig. 12.** Confronto tra MIC della tulatromicina contro *A. pleuropneumoniae* e *P. multocida* se sviluppati nel brodo o in un mezzo contenente siero

La suscettibilità dei batteri alla tulatromicina è stata aumentata di 3-5 diluizioni, portando la MIC degli organismi nell'intervallo di PK del plasma analogo a molti altri antibiotici.

## CONCLUSIONI

L'integrazione di PK/PD può essere molto utile per scegliere le migliori medicine e impiegarle correttamente per ottenere il migliore programma possibile. È un dato molto potente per l'interpretazione dei dati perché se i dati non corrispondono, in genere è perché alcuni aspetti non sono gestiti correttamente, ad es. il metodo MIC è sbagliato, o la concentrazione del tessuto oggetto è sbagliata probabilmente a causa dell'elevata legatura delle proteine. Le relazioni PK/PD individuate nel trattamento dei soggetti umani sono molto utili per le terapie veterinarie, anche se è necessario includere alcuni aspetti aggiuntivi. La medicina veterinaria spesso usa farmaci più vecchi come le tetracicline, che sono principalmente batteriostatiche. Il rapporto della PK con i pattern di resistenza antimicrobica è inoltre utile per determinare gli effetti della passata esposizione e dello

sviluppo della resistenza. I nuovi sviluppi sui breakpoint epidemiologici, i pattern di mutazione e i breakpoint clinici sono inoltre utili al medico per migliorare i programmi di dosaggio e, ove possibile, superare la concentrazione di prevenzione della mutazione, così che le possibilità di selezione dei mutanti e sviluppo della resistenza vengono ridotte.

Nella medicina veterinaria ci sono altri limiti da prendere in considerazione, quali il costo economico delle medicine, la potenziale tossicità causata dall'aumento delle dosi e la riduzione della palatabilità nel caso di somministrazione orale, nonché gli effetti dell'astinenza. Tuttavia, ci sono altre opportunità, concesse dalle tecniche di integrazione PK/ PD, per migliorare la nostra comprensione del funzionamento degli antibiotici ed aiutare i veterinari ad usarli in modo prudente e più efficace per ridurre lo sviluppo della resistenza sia negli animali che negli uomini.

## **RIFERIMENTI.**

- Anderson, M.D., Stroh, S.L. and Rogers, S. (1994) Tiamulin (Denagard®) activity in certain swine tissues following oral and intramuscular administration (*Attività della tiamulina (Denagard®) in alcuni tessuti dei suini dopo la somministrazione orale e intramuscolare*). Proceedings of the American Association of Swine Practitioners, Chicago Illinois, USA, pp115-118
- Benchaoui, H.A., Nowakowski, M., Sherington, J., Rowan, T.G. and Sunderland, S.J. (2004) Pharmacokinetics and lung concentrations of tulathromycin in swine. (*Farmacocinetica e concentrazione polmonare della tulatromicina nel suino.*) Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics, 27, 203-210
- Burch, D.G.S. and Klein, U. (2008) Pharmacokinetic / pharmacodynamic relationships of tiamulin (Denagard ®) for respiratory infections in pigs (Rapporti farmacocinetici/farmacodinamici della tiamulina (Denagard ®) per le infezioni respiratorie nei suini). Atti del XX Congresso IPVS, Durban, S. Africa, 2, p. 494.
- Bywater, R., Silley, P. and Simjee, S. (2006) Letter: Antimicrobial breakpoints – definitions and conflicting requirements (*Lettera su: breakpoint antimicrobici, definizioni e requisiti in conflitto*). Veterinary Microbiology, 118, 158-159.
- Casals, J.B., Nielsen, R. and Szancer, J. (1990) Standardisation of tiamulin for routine sensitivity of *Actinobacillus (Haemophilus) pleuropneumoniae* (Ap). (*Standardizzazione della tiamulina per la sensibilità di routine dell'Actinobacillus (Haemophilus) pleuropneumoniae(Ap).*)Atti del XI Congresso IPVS, Losanna, Svizzera, p. 43.
- Drlica, K. (2003) The mutant selection window and antimicrobial resistance. (*Finestra di selezione dei mutanti e resistenza antimicrobica*)Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 52, 11-17
- Godinho, K.S., Keane, S.G. Nanjiani, I.A., Benchaoui, H.A., Sunderland, S.J., Jones, M.A., Weatherley, A.J., Gootz, T.D. and Rowan, T.G. (2005) Minimum concentrations

of tulathromycin against respiratory bacterial pathogens isolated from clinical cases in European cattle and swine and variability arising from changes in in-vitro methodology. (*Concentrazioni minime di tulatromicina per combattere patogeni delle vie respiratorie isolati da casi clinici di bovini e suini europei e variabilità dovute alle metodologie in vitro*). *Veterinary Therapeutics*, 6, 2, 113-121.

Godinho, K.S. (2008) Susceptibility testing of tulathromycin: Interpretative breakpoints and susceptibility of field isolates (*Test di suscettibilità della tulatromicina. Breakpoint interpretativi e suscettibilità degli isolati sul campo*). *Veterinary Microbiology*, 129, 426-432.

Hannan, P.C.T., O'Hanlon, P.J. and Rogers, N.H. (1989) In vitro evaluation of various quinolone antibacterial agents against veterinary mycoplasmas and porcine respiratory bacterial pathogens. (*Valutazione in vitro dei diversi agenti antibatterici quinolonici usati contro micoplasmi veterinari e patogeni batterici delle vie respiratorie dei suini*). *Research in Veterinary Science*, 46, 202-211.

Lees, P. and Aliabadi, F.S. (2002) Rational dosing of antimicrobial drugs: animals versus humans. (*Dosaggio razionale di farmaci antimicrobici: animali vs. umani*) *International Journal of Antimicrobial Agents*, 19, 269-284

Lees, P., Svendsen, O. and Wiuff, C. (2008) Chapter 6: Strategies to minimise the impact of antimicrobial treatment on the selection of resistant bacteria. (*Capitolo 6: strategie di minimizzazione dell'impatto delle terapie antimicrobiche nella selezione dei batteri resistenti*). In *Guide to Antimicrobial Use in Animals*. Eds, Guardabassi, L., Jensen, L.B. and Kruse, H., Blackwell Publishing, Oxford, UK pp. 77-101

Scheer, M. (1987) Concentrations of active ingredient in the serum and in tissues after oral and parenteral administration of Baytril. (*Concentrazioni del principio attivo nel siero e nei tessuti dopo la somministrazione per via orale e parenterale del Baytril*). *Veterinary Medical Review*, 2, 104-118.

Schentag, J.J. (2000) Clinical pharmacology of the fluoroquinolones: studies in human dynamic/kinetic models. (*Farmacologia clinica dei fluoroquinoloni: studi su modelli umani dinamici/chinetici*) *Clinical Infectious Disease*, 31 (Supplement 2) S40-44

Stoker, J., Parker, R. and Spencer, Y. (1996) The concentration of tilmicosin in pig serum and respiratory tissue following oral administration with Pulmotil® via the feed at a level of 400g/tonne. (*La concentrazione della tilmicosina nel siero e nel tessuto respiratorio dei suini dopo la somministrazione per via orale di Pulmotil® nel mangime al dosaggio di 400g/tonnellata*). *Atti del XIV Congresso IPVS, Bologna, Italia*, p. 656.

Tam, V.H., Schilling, A.N., Neshat, S., Poole, K., Melnick, D.A. and Coyle, E.A. (2005) Optimization of Meropenem minimum concentration/MIC ratio to suppress in vitro resistance of *Pseudomonas aeruginosa*. (*Ottimizzazione del rapporto concentrazione*

*minima/MIC del Meropenem per sopprimere la resistenza in vitro del Pseudomonas aeruginosa*). Antimicrobial Agents and chemotherapy, 49, 12, 4920-4927

Wiuff, C., Lykkesfeldt, J., Aarestrup, F.M. and Svendsen, O. (2002) Distribution of enrofloxacin in intestinal tissue and contents of healthy pigs after oral and intramuscular administrations. (*Distribuzione dell'enroflaxicina nel tessuto e nel contenuto intestinale nei suini sani dopo la somministrazione orale e intramuscolare*). Journal of Veterinary Pharmacology and Therapy, 25, 335-342

Veterinary Medicines Directorate (2008) Report: Sales of antimicrobial products for use as veterinary medicines, antiprotozoals, antifungals, growth promoters and coccidiostats in the UK in 2007. (Vendita di prodotti antimicrobici per l'uso come farmaci veterinari, antiprotozoici, antifungini, promotori della crescita e coccidiostati nel Regno Unito nel 2007.)