Los estudios farmacocinéticos y su importancia en terapia antibiótica

DRA. Mª JESÚS SERRANO ANDRÉS
Investigadora del instituto Agroalimentario de Aragón. Facultad de Veterinaria, Universidad de Zaragoza, España.

INTRODUCCIÓN

El uso de antibióticos en producción animal y, por ende, en producción porcina, ha recibido mucha atención en los últimos años. Si bien son grandes aliados de la salud animal y humana, una mala gestión de los mismos puede derivar en situaciones que comprometan la salud en el marco *One Health*. Es por ello que la tendencia actual ha ido hacia una racionalización en su utilización, y aunque el buen hacer de productores y veterinarios ha logrado una reducción ostensible en su consumo, ciertos estudios podrían ayudar a incrementar el beneficio de sus esfuerzos, ya que este descenso no ha ido asociado a un declive en el ritmo de aparición de resistencias microbianas. Es cierto que el respeto de los periodos de supresión es clave para evitar la entrada de residuos antibióticos en la cadena alimentaria, pero estudios acerca de la distribución de los antibióticos en los distintos fluidos del animal podrían incrementar la protección a la población general.

Palabras clave: antibióticos, porcino, *One Health*, farmacocinética, antibiorresistencias.

El uso de antibióticos en producción animal

Desde hace unos años, tanto la Organización Mundial de la Salud (OMS) como autoridades a nivel europeo tales como la EMA (Agencia Europea del Medicamento) o nacional como la AEMPS (Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios) han apostado por estrategias dirigidas a la racionalización en el uso de antibióticos, no solo mediante la reducción en su administración, sino mediante la implantación de buenas prácticas de manejo en granja. Tan efectivas han sido estas medidas, que los últimos datos publicados por la EMA (EMA, 2020a) reflejan un descenso global de casi el 35% en las ventas europeas en los últimos años. Sin embargo, esta distribución varía entre países y, aunque los datos son tranquilizadores, España continúa entre los países con un mayor consumo en el marco comunitario *(Figura 1)*. Sin embargo, los últimos datos publicados por el Plan Nacional frente a la Resistencia a los Antibióticos (PRAN, 2020) muestran una reducción adicional del 13,6% en las ventas de antibióticos veterinarios en 2019, señal de las buenas prácticas del sector

Centrándonos en la racionalización del uso de antibióticos en producción porcina, son varias las estrategias promovidas a nivel nacional por organismos como el PRAN (Plan Nacional frente a la Resistencia a Antibióticos). Precisamente es éste quien lanzó el Programa Reduce Colistina en el año 2016 en colaboración con las asociaciones nacionales de veterinarios y profesionales del sector, que ya ha logrado una reducción superior al 97% en el uso de esta polimixina en la población nacional porcina.

Antibiorresistencias

Todas las autoridades sanitarias coinciden en animar al sector productor animal a reducir la administración de antibióticos. ¿A qué es debido entonces el interés global hacia una racionalización en su administración? Tal vez la participación del PRAN en este asunto dé una idea aproximada del objetivo. A pesar de que los antibióticos pueden llegar a los consumidores de forma directa a través de la ingesta de productos de origen animal contaminados (carne, leche, huevos, etc.), pudiendo dar lugar a alergias, disbiosis intestinales y otros efectos secundarios, el respeto de los periodos de supresión es suficiente para asegurar su protección. Otra opción pasaría por su llegada

FIGURA 1 Distribución por países de las ventas de antimicrobianos en animales de producción (expresadas en mg/PCU) en el año 2018 (EMA, 2020a).

de forma indirecta mediante aguas o vegetales contaminados por residuos antimicrobianos tras la fertilización de los campos. No obstante, las probabilidades de que los residuos de antibióticos, a los niveles a los que podrían encontrarse en estos nichos, den lugar a un problema sanitario de este tipo son mucho menores a la emergencia sanitaria que se vive en la actualidad a causa de las antibiorresistencias.

He ahí el *quid* de la cuestión. Los antibióticos, en producción animal, se utilizan para combatir la propagación de microorganismos causantes de una patología que compromete la viabilidad del sistema productivo. Sin embargo, un uso inadecuado de los mismos puede dar lugar a la aparición de poblaciones resistentes frente a las que los antibióticos usados de forma común no sean efectivos. Tan grave es esta situación, que la OMS *(OMS, 2017)* considera las antibiorresistencias como una de las mayores amenazas a las que se enfrenta la humanidad en las próximas décadas. Y la razón por la que los mayores esfuerzos para frenar este fenómeno se centran en el sector ganadero está en relación a las cifras de ventas: en torno al 70% de los antibióticos consumidos en la Unión Europea (UE) pertenece al sector productor animal (*European Centre for Disease Control* ECDC, 2017).

Control en el uso de antimicrobianos y entrada en la cadena alimentaria

Así pues, los esfuerzos comunes de autoridades y sector productor están dando sus frutos y han mejorado la gestión actual en materia de antibióticos en ganadería. Para dar incluso más seguridad a los consumidores, el Plan Nacional de Investigación de Residuos (PNIR) y la Agencia Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) analizan el producto final, obteniendo datos tan buenos como un 0,17% de muestras no conformes (EFSA, 2020). Sin embargo, el buen hacer del sector no se ha visto reflejado en una mejora en las resistencias antimicrobianas, que siguen extendiéndose por todo el mundo. A modo de ejemplo, el último informe al respecto publicado por el ECDC (ECDC, 2020) muestra más de un 50% de aislados de *Escherichia coli* y un tercio de los de *Klebsiella pneumoniae* resistentes a, al menos, un antimicrobiano, siendo frecuentes fenómenos de multirresistencia. Estos microorganismos son causantes, entre otras, de graves colibacilosis en lechones o cuadros respiratorios avanzados en cerdo adulto. Llegados a este punto, la pregunta es: ¿qué está pasando si estamos haciendo todo bien?

El proyecto TESTACOS

El proyecto POCTEFA-TESTACOS surgió con el objetivo de apoyar al sector ganadero en el autocontrol de los residuos antibióticos en sus explotaciones. Teniendo en cuenta los datos publicados por la EFSA, la principal vía de dispersión de residuos antimicrobianos no parece ser la cadena alimentaria. Así pues, se planteó desarrollar un estudio sobre la farmacocinética postratamiento antibiótico en cerdo, que permitiese evaluar las posibles vías de diseminación al medio de estos compuestos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Un total de 93 lechones (62 hembras y 31 machos) con un peso medio de 43.00 ±12.79 kg fueron provistos sin haber recibido tratamiento antibiótico 40 días antes ›

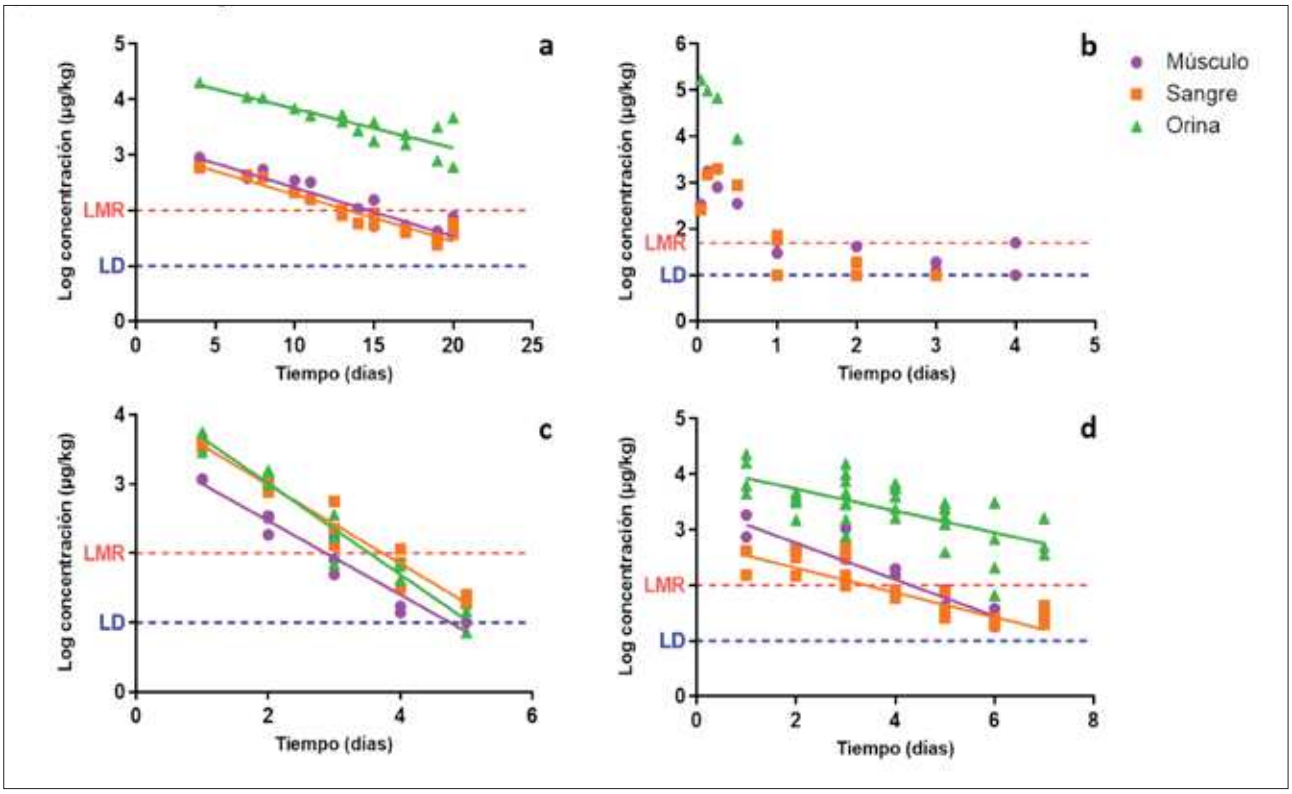

FIGURA 2 Evolución de la concentración de oxitetraciclina *(Figura 1a)*, amoxicilina *(Figura 1b)*, sulfametoxipiridazina *(Figura 1C)* y enrofloxacina *(Figura 1d)* en músculo (●), sangre (■) y orina (▲) de cerdos tratados a lo largo del periodo de supresión. La línea punteada roja representa el LMR (Límite Máximo de Residuos) establecido por el Reglamento (UE) 37/2010 para cada compuesto, y la línea punteada azul, el Límite de Detección (LD) de la técnica cromatográfica.

› del comienzo del estudio. De ellos, 20 fueron tratados con una tetraciclina (oxitetraciclina), 16 con una penicilina (amoxicilina), 20 con una sulfamida (sulfametoxipiridazina) y 22 con una quinolona (enrofloxacina). Los productos utilizados se administraron siguiendo las pautas de la casa comercial ., siguiendo los periodos de supresión indicados por el fabricante y los Límites Máximos de Residuos (LMRs) establecidos por el Reglamento (UE) 37/2010. Los 15 lechones restantes no se trataron para contar con muestras blancas de referencia. Los antibióticos utilizados se eligieron por la magnitud de sus ventas declaradas a la ECDC en el momento en el que se realizó el estudio (ECDC, 2017): el 30,7% de las ventas anuales totales se correspondieron a tetraciclinas, el 28,8% a penicilinas y el 8,4% a sulfamidas. Las quinolonas se incluyeron en el estudio porque a pesar de que se ha producido un importante descenso en sus ventas (74,4% menos en 2018 con respecto al año anterior), su inclusión por la EMA en la Categoría B es señal de su trascendencia en Medicina humana (EMA, 2020b).

Tras el tratamiento, los animales se sacrificaron a intervalos predeterminados de tiempo a lo largo del periodo de supresión, y tras el sacrificio, se recogieron muestras de músculo, sangre y orina que conforman un banco de más de 10.000 muestras biológicas pareadas naturalmente contaminadas. Cada día de muestreo se recogió orina y sangre de entre 1 y 9 cerdos sometidos al mismo tratamiento y periodo de supresión, mientras que, por razones obvias, solo se recogió tejido muscular del animal sacrificado. Estas muestras se caracterizaron por cromatografía HPLC-FLD (*High Performance Liquid Chromatography with Fluorescence Detection*) o LC-MS/MS (*Liquid Chromatography with tandem Mass Spectrometry*) en función del antibiótico y la matriz estudiada (análisis llevados a cabo por el LNSPB, Laboratorio Normativo de Salud Pública del Gobierno Vasco, Bizkaia, España). Los animales se manejaron en todo momento de acuerdo a la iniciativa ARRIVE (*Animal Research: Reporting of In Vivo Experiments*) y el protocolo experimental fue aprobado por el Comité Ético para la Experimentación Animal de la Universidad de Zaragoza.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para los cuatro antibióticos estudiados, como era de esperar, las concentraciones descritas en las tres matrices fueron mayores en los primeros momentos del periodo de supresión y descendieron de forma exponencial a lo largo del mismo *(Figura 2)*. Únicamente se encontraron desviaciones en esta linealidad en las muestras procedentes de cerdos tratados con amoxicilina *(Figura 2b)*. Afortunadamente,

la eliminación de este compuesto es tan rápida que dichas desviaciones no deberían ser en ningún caso motivo de preocupación (independiententemente de la matriz estudiada, alcanza valores inferiores al LMR para músculo en las primeras 24 horas postratamiento, en comparación con los 25 días que indica el fabricante del medicamento como periodo de supresión).

De la regresión llevada a cabo sobre los valores representados en la *Figura 2*, se calcularon los ritmos de eliminación (λz) de los antimicrobianos. Los correspondientes tiempos de vida media T1/2 (tiempos necesarios para que la concentración del fármaco se reduzca a la mitad) se calcularon a partir de la siguiente ecuación:

$$T_{(1/2)} = \mathrm{Ln}\,(2) \,/\, \lambda z$$

Oxitetraciclina

La *Figura 2a* muestra el ritmo de eliminación de la oxitetraciclina tras el tratamiento de los cerdos, a lo largo del periodo de supresión, fijado por el fabricante en 28 días. Es fácilmente observable que las concentraciones en músculo y sangre son muy similares, hecho relacionado directamente con cuestiones de homeostáticas. Sin embargo, a pesar de que el ritmo de eliminación en orina es similar al de las otras dos matrices, las concentraciones descritas son mucho más altas, lo que apunta hacia ésta como una de las principales vías de eliminación de la oxitetraciclina del organismo. Además, si extrapolamos de la gráfica el tiempo necesario para la completa eliminación del compuesto de músculo y sangre, a los 26 días postratamiento sus niveles descienden por debajo del LD de la técnica, por lo que podríamos hablar de una eliminación casi completa y asegurar, aunque de manera un tanto ajustada, la efectividad del respeto del periodo de supresión en cuanto a la protección de los consumidores de esta carne.

No obstante, el comportamiento de la orina es sorprendente. Considerando la elevada concentración inicial del compuesto en orina en relación a las otras dos matrices (del orden de 10 veces superior) y extrapolando de la regresión llevada a cabo sobre los datos presentados en la *Figura 2a,* obtenemos un tiempo necesario para alcanzar la completa eliminación de oxitetraciclina en orina de más de 60 días, periodo muy superior a la supresión indicada en el envase del medicamento (28 días). Esta podría ser una de las razones por las que este compuesto es detectado frecuentemente y a elevadas concentraciones en residuos de granja *(Zhi et al., 2020)* Este hecho podría estar dando lugar a la eliminación de residuos antibióticos al medio de forma no controlada, ya que un inadecuado tratamiento de estas emisiones estará directamente relacionado con la generación de resistencias en poblaciones microbianas en contacto. Tanto es así que las tetraciclinas se han detectado en numerosas ocasiones en aguas subterráneas y estanques de los alrededores de explotaciones porcinas *(Chee-Sanford et al., 2001; Mackie et al., 2002; Koike et al., 2007)*. Es por ello que un buen conocimiento de la farmacocinética de los antibióticos utilizados en las explotaciones podría suponer un importante impulso en el avance del fenómeno de generación de antibiorresistencias.

Amoxicilina

A pesar de que los datos obtenidos no permitieron describir una buena regresión que describiese el ritmo de eliminación en este compuesto de músculo y sangre de cerdos tratados, la rápida eliminación de este compuesto en los primeros momentos tras el tratamiento hace que no sea un compuesto preocupante desde el punto de vista sanitario, sobre todo si se tiene en cuenta los 25 días de supresión indicados en el prospecto del producto. Sin embargo, cabría señalar las elevadas concentraciones descritas en orina en comparación con las otras dos matrices, lo que nuevamente apuntaría a una eliminación a través de esta vía.

Sulfametoxipiridazina

En el caso de la sulfametoxipiridazina, nuevamente, se observó un ritmo de eliminación similar en las tres matrices estudiadas. A pesar de que las concentraciones descritas en sangre y orina fueron similares, éstas fueron superiores a las descritas en músculo, por lo que, aunque menos alarmante, nos encontramos de nuevo ante concentraciones más elevadas en orina que en músculo, matriz para la cual están calculados los periodos de supresión. No obstante, el periodo de supresión indicado de 28 días, protegería al consumidor frente a la ingesta de carne contaminada y sería suficiente para hacer una adecuada gestión de los purines de animales tratados con este compuesto. Sin embargo, aunque la sulfametoxipiridazina se elimina del organismo de forma rápida, es frecuente encontrar compuestos de la familia de las sulfamidas en residuos procedentes de granja *(Zhang et al., 2018)*.

Enrofloxacina

Del mismo modo que sucedía para los otros antimicrobianos estudiados, las concentraciones descritas en orina fueron mayores a las descritas en músculo a lo largo del periodo de supresión, fijado para este medicamento en 12 días. Nuevamente, las concentraciones en músculo y sangre fueron muy similares, y los ritmos de eliminación fueron idénticos en orina y sangre, aunque se encontró una pequeña desviación en el descrito para músculo. Esta diferencia podría deberse a diferencias interindividuales en la metabolización del compuesto, ya descritas en otros trabajos tras la administración de enrofloxacina en cerdos vía oral *(Nielsen et al, 1997)* y subcutánea (*Messenger et al., 2012*). Además, estas variaciones también se han observado en este estudio para los otros antimicrobianos, y en estudios previos con macrólidos (*Benchaoui et al., 2004*), sulfamidas *(Mengelers et al., 1995; 2001)*, oxitetraciclinas *(El Korchi et al., 2001)*, etcétera.

Al igual que con los otros compuestos, si se extrapola de la regresión el tiempo necesario para la completa eliminación del compuesto de las tres matrices estudiadas, el respeto ›

	Músculo	Sangre	Orina
Oxitetraciclina	3,43	3,59	4,18
Sulfametoxipyridazina	0,55	0,55	0,49
Enrofloxacina	0,92	1,90	1,48

TABLA 1 Tiempos de vida media ($T_{1/2}$) calculados para cada antibiótico y matriz, expresados en días.

del tiempo de supresión no supondría ningún riesgo sanitario para el consumidor de la carne de los cerdos tratados. No obstante, el animal continuaría eliminando el compuesto por orina más allá de los 20 días postratamiento, superando el periodo de supresión pactado en 12 días. Esto supondría la llegada a los purines de unas concentraciones no controladas de enrofloxacina que podrían estar relacionadas con su aparición en nichos cercanos a la granja, donde por presión selectiva podrían participar activamente en la generación de resistencias microbianas.

COMPARATIVA DE LA FARMACOCINÉTICA DE LOS ANTIMICROBIANOS ESTUDIADOS

La *Tabla 1* y la *Figura 3* muestran los tiempos de vida media de los antimicrobianos en las tres matrices estudiadas. La amoxicilina se eliminó de la comparativa ya que no se pudo llevar a cabo una regresión adecuada sobre los datos presentados y su rápida eliminación facilita el autocontrol de sus residuos. A simple vista, se aprecian claras diferencias entre el comportamiento de los tres antimicrobianos. Los $T_{1/2}$, es decir, los tiempos necesarios para la eliminación de oxitetraciclina de las tres matrices estudiadas fueron en todos los casos similares para cada antibiótico y siempre mayores para oxitetraciclina, seguida de enrofloxacina y, por último, sulfametoxipiridazina *(Figura 3)*. Tanto es así que los $T_{1/2}$ descritos para oxitetraciclina en músculo fueron casi 4 veces mayores en comparación con la sulfamida, 2 veces para sangre y 3 para orina. Además, si comparamos los ritmos de eliminación de los antimicrobianos por orina, observamos diferencias de hasta 10 veces entre la tetraciclina y la sulfamida *(Tabla 1)*.

CONCLUSIONES E IMPLICACIONES DE LAS DIFERENCIAS EN LOS RITMOS DE ELIMINACIÓN DE LOS ANTIBIÓTICOS

El estudio de farmacocinética ha revelado, como era esperable, diferencias en la metabolización entre antimicrobianos de distintas familias. De forma general, las concentraciones descritas en músculo y sangre son similares, e inferiores a las halladas en orina, la cual, en base a los datos presentados en este estudio, es una de las principales vías de eliminación de los compuestos antimicrobianos explorados. Por su parte, los ritmos de eliminación de los antimicrobianos por orina han sido muy diferentes, eliminación que ha sobrepasado incluso los tiempos de supresión indicados para cada medicamento. Esta situación, a nivel práctico, podría derivar en emisiones incontroladas de residuos al entorno o, por el contrario, convertirse en una herramienta útil de cara a la gestión de residuos antibióticos.

A priori, podría resultar interesante elegir el antimicrobiano con una excreción más rápida para así reducir el tiempo en el que se debe controlar su presencia en los purines. Sin embargo, se deberán cumplir siempre las recomendaciones de la EMA (EMA, 2020b), y será el antibiograma el elemento crítico que determinará la susceptibilidad del agente etiológico del brote. Casualmente, volvemos al inicio: dicha susceptibilidad estará supeditada al fenómeno de resistencia microbiana, en el que juegan un papel protagonista los residuos de antibióticos. Así pues, todos los estudios e iniciativas que ayuden a

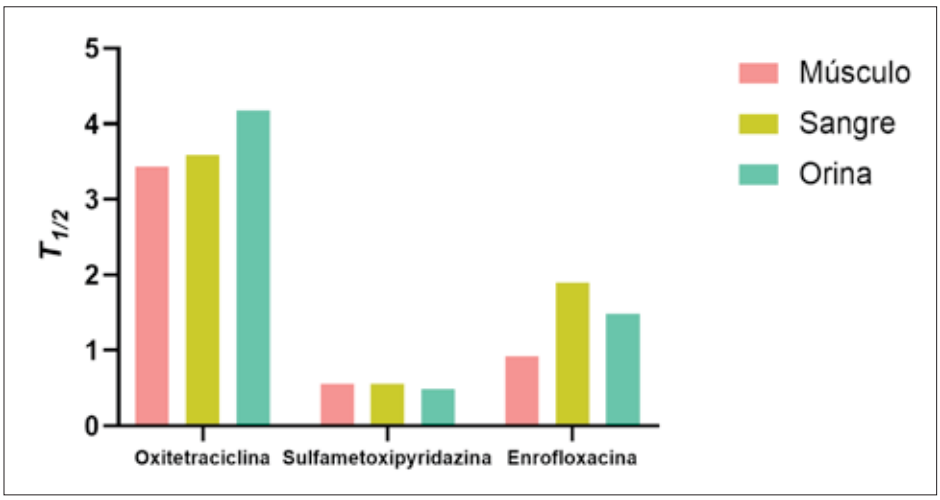

FIGURA 3 Representación gráfica de los tiempos de vida media calculados para cada antibiótico en cada una de las tres matrices.

controlar la presencia de estos residuos en el medio ambiente, frenarán este ciclo, reducirán la generación de resistencias y contribuirán a la mejora de Salud Pública desde el enfoque *One Health.*

Más información del proyecto POCTEFA-TESTACOS en *www.testacos.com.*

El proyecto ha sido cofinanciado al 65% por el Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER) a través del Programa Interreg V-A España-Francia-Andorra (POCTEFA 2014-2020). ■

REFERENCIAS

- Benchaoui, H.A.; Nowakowski, M.; Sherington, J.; Rowan, T.G.; Sunderland, S.J. Pharmacokinetics and lung tissue concentrations of tulathromycin in swine. *J. Vet. Pharmacol.* Ther. 2004, 27, 203–10.
- Chee-Sanford, J.C.; Aminov, R.I.; Krapac, I.J.; Garrigues-Jeanjean, N.; Mackie, R.I. Occurrence and diversity of tetracycline resistance genes in lagoons and groundwater underlying two swine production facilities. Appl. Environ. *Microbiol.* 2001, 67, 1494–1502.
- 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. *Off J Eur Union* 2010 L. 15:1–72
- ECDC, 2017. ECDC/EFSA/EMA Second 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. EFSA Journal, 15, e04872. Disponible en: https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.2903/j.efsa.2017.4872. Acceso el 25 de octubre de 2021.
- ECDC, 2020. Antimicrobial resistance in the EU/EEA (EARS-Net) Annual Epidemiological Report for 2019. Disponible en: https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/surveillance-antimicrobial-resistance-europe-2019. Acceso el 20 de octubre de 2021.
- EFSA, 2020. Report for 2018 on the results from the monitoring of veterinary medicinal product residues and other substances in live animals and animal products. Disponible en: https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.2903/sp.efsa.2020.EN-1775. Acceso el 3 de febrero de 2020.
- El Korchi, G.; Prats, C.; Arboix, M.; Pérez, B. Disposition of oxytetracycline in pigs after administration of two long-acting formulations. *J. Vet. Pharmacol.* Ther. 2001, 24, 247–250.
- EMA, 2020a. Sales of veterinary antimicrobial agents in 31 European countries in 2018 Trends from 2010 to 2018 Tenth ESVAC report. Disponible en: https://www.ema.europa.eu/en/documents/report/sales-veterinary-antimicrobial-agents-31-european-countries-2018-trends-2010-2018-tenth-esvac-report_en.pdf. Acceso el 12 de abril de 2021.
- EMA, 2020b. Categorisation of antibiotics for use in animals for prudent and responsible use. 2020a. Disponible en: https://www.ema.europa.eu/en/documents/report/infographic-categorisation-antibiotics-use-animals-prudent-responsible-use_en.pdf. Acceso el 27 de abril de 2021.
- Koike, S.; Krapac, I.G.; Oliver, H.D.; Yannarell, A.C.; Chee-Sanford, J.C.; Aminov, R.I.; Mackie, R.I. Monitoring and source tracking of tetracycline resistance genes in lagoons and groundwater adjacent to swine production facilities over a 3-year period. Appl. Environ. *Microbiol.* 2007, 73, 4813–23.

  1. Mackie, R.I.; Koike, S.; Krapac, I.; Chee-Sanford, J.; Maxwell, S.; Aminov, R.I. Tetracycline residues and tetracycline resistance genes in groundwater impacted by swine production facilities. Anim. *Biotechnol.* 2006, 17, 157–76.

  - Mengelers, M.J.B.; van Gogh, E.R.; Huveneers, M.B.M.; Hougee, P.E.; Kuiper, H.A.; Pijpers, A.; Verheijden, J.H.; Van Miert, A.S. Pharmacokinetics of sulfadimethoxine and sulfamethoxazole in combination with trimethoprim after oral single-and multiple-dose administration to healthy pigs. *Vet. Res. Commun.* 2001, 25, 461–81.
- Mengelers, M.J.B.; Van Gogh, E.R.; Kuiper, H.A.; Pijpers, A.; Verheijden, J.H.; Van Miert, A.S. Pharmacokinetics of sulfadimethoxine and sulfamethoxazole in combination with trimethoprim after intravenous administration to healthy and pneumonic pigs. *J. Vet. Pharmacol.* Ther. 1995, 18, 243–53.
- Messenger, K.M.; Papich, M.G.; Blikslager, A.T. Distribution of enrofloxacin and its active metabolite, using an in vivo ultrafiltration sampling technique after the injection of enrofloxacin to pigs. *J. Vet. Pharmacol.* Ther. 2012, 35, 452–9.
- Nielsen, P.; Gyrd-Hansen, N. Bioavailability of enrofloxacin after oral administration to fed and fasted pigs. Pharmacol. Toxicol. 1997, 80, 246–50.
- OMS, 2017. El enfoque multisectorial de la OMS "Una salud". Disponible en: https://www.who.int/features/qa/one-health/ es/. Acceso el 4 de febrero de 2020.
- PRAN, 2020. Noticia: España reduce un 5,4 % el consumo de antibióticos en salud humana y un 13,6 % las ventas de antibióticos veterinarios en 2019. Disponible en: https://resistenciaantibioticos.es/es/noticias/espana-reduce-un-54-el-consumo-de-antibioticos-en-salud-humana-y-un-136-las-ventas-de. Acceso el 20 de mayo de 2021.
- Zhang, M.; Liu, Y.S.; Zhao, J.L.; Liu, W.R.; He, L.Y.; Zhang, J.N.; Chen, J.; He, L.K.; Zhang, Q.Q.; Ying, G.G. Occurrence, fate and mass loadings of antibiotics in two swine wastewater treatment systems. *Sci. Total Environ.* 2018, 639, 1421–31.
- Zhi, S.; Shen, S.; Zhou, J.; Ding, G.; Zhang, K. Systematic analysis of occurrence, density and ecological risks of 45 veterinary antibiotics: Focused on family livestock farms in Erhai Lake basin, Yunnan, China. *Environ. Pollut.* 2020, 267, 115539.