



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



**EVALUACIÓN DE CONCENTRACIONES SÉRICAS DE
TILMICOSINA ADMINISTRADA EN UN PREPARADO
FARMACÉUTICO CON METOCEL COMO MODIFICADOR DE
BIODISPONIBILIDAD EN AVES BOVANS WHITE**

TESIS
QUE PRESENTA:

ROSTRO HERNÁNDEZ LESLIE BELEM

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
MÉDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA

Asesores:

MVZ AQUINO DÍAZ ITZCOATL FELIPE
MVZ SUMANO LÓPEZ HÉCTOR SALVADOR

CIUDAD UNIVERSITARIA, CD. MX.

2021



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DEDICATORIAS

A mis papás, Verónica y Antonio, por el amor, su guía y el apoyo para que pudiera lograr mis metas, todo lo que soy y llegaré a ser es por ustedes.

A Tete, por cuidar de mí mientras crecía y seguir cuidándome desde el cielo.

A Nelly, Ice, Arena, Tin Tan, Mateo y Luna, mi motivación cada día para seguir mejorando.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Itzcoatl Felipe Aquino Díaz por su asesoría y apoyo durante la realización de la tesis.

Al Dr. Héctor Sumano López por su participación como integrante del comité tutorial y su apoyo en el desarrollo de la tesis.

Al Dr. Luis Ocampo Camberos, jefe del departamento de Fisiología y Farmacología, por haberme permitido utilizar las instalaciones para realizar mi tesis.

A la Dra. Lizbeth Yesenia Carrillo González por brindarme su apoyo en la realización de este proyecto.

CONTENIDO

LISTA DE FIGURAS	V
LISTA DE CUADROS	VI
1. INTRODUCCIÓN.....	2
1.1 Generalidades de tilmicosina.....	2
1.2 Farmacocinética.....	4
1.3 Farmacocinética/Farmacodinamia.....	5
1.4 Vehículos gastrorretentivos.	8
1.5 Avicultura en México	10
1.6 Tilmicosina en medicina aviar.....	11
2. HIPÓTESIS.....	14
3. OBJETIVO.....	14
4. MATERIAL Y MÉTODOS.....	15
4.1 Animales.	15
4.2 Tratamientos.....	15
4.3 Toma y procesamiento de muestras.	16
5. RESULTADOS.....	17
6. DISCUSIÓN.	23
7. CONCLUSIÓN.	29
8. REFERENCIAS.....	30

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Formula estructural de tilmicosina.....	3
Figura 2. Curva concentración-tiempo: Tiempo > CMI como parámetro farmacodinámico a optimizar para antibióticos dependientes del tiempo.....	8
Figura 3. Producción de la industria avícola en el 2019 en México.....	11
Figura 4. Concentraciones medias \pm EE de tilmicosina en suero en aves Bovans White obtenidos con la administración en el alimento de un preparado de referencia de tilmicosina (TC; estrellas) y de un pellet diseñado para una mejor biodisponibilidad y una acción más prolongada (TF; círculos).....	18
Figura 5. Promedio y EE de concentraciones séricas de TF (tilmicosina en FOLA a razón de 30 mg/kg) (círculos) y TC (tilmicosina en polvo a razón de 30 mg/kg) (estrellas) administrados en el alimento en aves, así como las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) reportadas para tres especies de <i>M. gallisepticum</i> 0.048 μ g/mL, 0.0125 μ g/mL, 0.054 μ g/mL respectivamente, <i>M. synoviae</i> 0.1 μ g/mL, <i>S. aureus</i> 0.04 μ g/mL, <i>O. rhinotracheale</i> 0.06-1 μ g/mL.....	22

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Perfiles farmacocinéticos realizados en diferentes especies.....	5
Cuadro 2. Valores de CMI para tilmicosina de diferentes microorganismos en aves.....	7
Cuadro 3. Contenido nutricional del alimento comercial para aves de postura.....	15
Cuadro 4. Promedio y error estándar (EE) de las concentraciones séricas ($\mu\text{g/mL}$) de tilmicosina obtenidas en los grupos TF y TC.....	17
Cuadro 5. Promedio de los parámetros farmacocinéticos de tilmicosina en aves a razón de 30 mg/kg administrados en el alimento por tres días consecutivos.....	19
Cuadro 6. Evaluación de la relación PK/PD para los grupos TF y TC con la relación $T > \text{CMI}$	21

RESUMEN

ROSTRO HERNÁNDEZ LESLIE BELEM. Evaluación de concentraciones séricas de tilmicosina administrada en un preparado farmacéutico con metocel como modificador de biodisponibilidad en aves Bovans White (bajo la dirección de: MVZ Itzcoatl Felipe Aquino Díaz y MVZ Héctor Salvador Sumano López)

Se evaluó si se lograba un aumento de la biodisponibilidad de la tilmicosina mediante la cuantificación de la concentración sérica, administrando una dosis de 30 mg/kg incorporada en el alimento durante 3 días consecutivos. Se utilizaron 19 aves de la línea Bovans White de 81 semanas, divididas en 2 grupos, al grupo TC se le administró tilmicosina en polvo mezclado con el alimento (n=9) y al grupo TF se le administró un pellet de liberación prolongada (n=10). Se obtuvieron muestras de sangre a las 0, 24, 48, 72 y 168 horas y se determinaron las concentraciones séricas mediante un método microbiológico/cuantitativo. Se obtuvo una C_{max} de 1.35 $\mu\text{g/mL}$ a las 48 h y 1.13 $\mu\text{g/mL}$ a las 72 h para el grupo TF y TC respectivamente. La vida media de eliminación ($T_{1/2\beta}$) fue de 38.85 h para TF y 42.94 h para TC. Se alcanzó un área bajo la curva de concentración plasmática en el tiempo (ABC_{0-168}) de 148.61 $\mu\text{g/mL}\cdot\text{h}$ para TF y 158.52 para TC. Ambos grupos mantuvieron concentraciones séricas hasta las 168 h, pero TF las presentó mayores hasta antes de 24 h. De acuerdo con la relación farmacocinética/farmacodinámica (PK/PD), la tilmicosina como antibiótico dependiente del tiempo mejora su eficacia clínica cuando se logran concentraciones por arriba de la MIC durante el mayor tiempo posible entre intervalos de dosificación ($T > CMI$), además a mayor ABC, más eficacia se presupone (ABC_{0-168}/CMI) contra patógenos susceptibles. En cuanto a relaciones de PK/PD, el grupo TF se mantuvo por lo menos 160 horas sobre la CMI de patógenos susceptibles, el grupo TC lo hizo por al menos 150 horas. Asimismo el grupo TF se mantuvo por encima de $CMI \times 5$ por al menos 160 horas y el grupo TC por 130 horas.

1. INTRODUCCIÓN.

1.1 Generalidades de tilmicosina.

La tilmicosina (20-desoxo-20-(3,5-dimetilpiperidin-1-yl) desmicosina) ($C_{46}H_{80}N_2O_{13}$) se compone de isómeros cis y trans-pirimidinilo en una proporción de aproximadamente 85:15 (Figura 1).¹ Es un antibiótico semisintético extraído del producto de la fermentación de *Streptomyces fradiae*, pertenece al familia de los macrólidos, específicamente a los de segunda generación, posee 16 carbonos y fue sintetizada a partir de la tilosina para un uso exclusivo en medicina veterinaria.²⁻⁴ Los macrólidos de segunda generación poseen una mejor biodisponibilidad oral comparados con los de primera generación como la tilosina; permitiendo que se administren por vía oral una o dos veces al día. También poseen lipofilias más altas, por lo que penetran mejor los tejidos y por lo tanto son activos contra patógenos intracelulares.²

La tilmicosina ejerce su acción bacteriostática al unirse de manera reversible a la subunidad ribosomal bacteriana 50S.² Inhibe la síntesis proteica por medio de un bloqueo de la unión del ARNt con los complejos ribosomales; la tilmicosina ocupa un sitio dentro del túnel de salida de un péptido naciente e interfiere con la formación de complejos de iniciación para la síntesis de cadenas de péptidos cuando ésta alcanza una longitud nominal de 5 a 11 aminoácidos o con las reacciones de aminoacilo de translocación, de esta forma se evita que la bacteria continúe con su ciclo de vida.^{2,5}

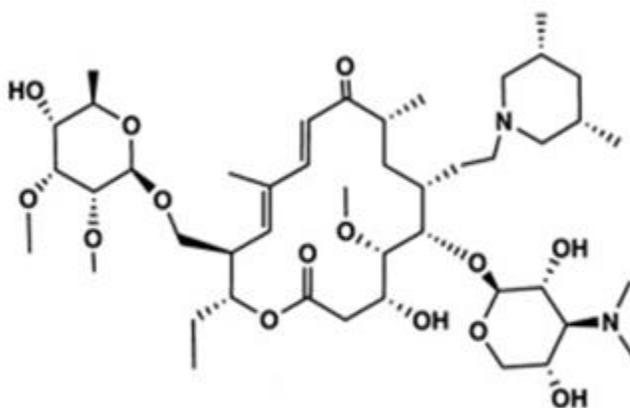


Figura 1. Formula estructural de tilmicosina.²

La tilmicosina puede introducirse a los neutrófilos de mamíferos, por lo cual se han reportado concentraciones intracelulares 40 veces mayores que las registradas en el suero.⁶ En bovinos y porcinos se ha demostrado que los macrófagos alveolares pueden acumular tilmicosina vía intracelular, obteniéndose altas concentraciones de tilmicosina en sitios de infección o inflamación.⁷ También se ha demostrado que los fagocitos de aves acumulan tilmicosina, alcanzando concentraciones intracelulares más altas en los heterófilos que en macrófagos y monocitos-macrófagos. Por otro lado, la captación de tilmicosina por los fagocitos de aves depende de la viabilidad celular, la temperatura y el pH, pero no está influenciada por los inhibidores metabólicos.⁸ Pueden existir concentraciones intracelulares de tilmicosina aunque las concentraciones extracelulares sean bajas, debido a que no solo se acumula tilmicosina sino que mantiene concentraciones durante al menos 4 horas después de que ya no hay tilmicosina en el espacio intersticial, favoreciendo el efecto post-antibiótico (EPA).⁸ También se observó que el alojamiento de tilmicosina intracelular aumenta la producción de enzimas lisosomales (fosfatasa ácida, lisozima, avidina y beta-glucuronidasa). Por lo tanto, la interacción de la tilmicosina con fagocitos contribuye a su eficacia clínica tanto ante patógenos intracelulares como extracelulares.⁶

Al entrar en contacto los macrófagos con las bacterias, éstos proyectan pseudópodos para que las bacterias pasen al contenido celular del macrófago y de ahí al lisosoma en el que se acumuló tilmicosina, generando dos acciones: 1) el fármaco inhibe la síntesis proteica bacteriana evitando la multiplicación y 2) las enzimas lisosomales destruyen a la bacteria.⁸ Al ingresar la tilmicosina en las células fagocitarias, le confiere una excelente eficacia contra microorganismos intracelulares como *Mycoplasma* spp, además de poseer actividad contra algunas bacterias gram negativas como *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Pasteurella multocida*, *Chlamydia* spp, *Manheimia haemolytica* y, gram positivos anaeróbios, *Staphylococcus aureus*, *Actinomyces pyogenes* y *Erysipelothrix rhusiopathiae*.^{4,6}

1.2 Farmacocinética.

La tilmicosina es poco soluble en agua, su solubilidad depende del pH y de la temperatura de este medio. Presenta una cinética de primer orden de absorción y de eliminación, aunque esta última es tan larga que puede convertirse en cinética de orden cero. A pesar de su rápida absorción tiene una baja biodisponibilidad cuando se administra por vía oral. Posteriormente se distribuye ampliamente con un volumen de distribución área (V_{dABC}) de 1.25 ± 0.082 L/kg; su vida media de eliminación ($T_{1/2\beta}$) es prolongada (44.3 ± 7.22 h), presenta una C_{max} 1.25 ± 0.09 $\mu\text{g/mL}$ y puede alcanzar concentraciones mucho más altas en tejido pulmonar. Finalmente se elimina lentamente en las heces en mayor proporción y en menor por medio de la orina.⁹⁻¹⁵

Se ha establecido el perfil farmacocinético de la tilmicosina en bovinos, ovejas, cerdos y aves. En el Cuadro 1, se presentan los perfiles farmacocinéticos en estas especies.

Cuadro 1.

Perfiles farmacocinéticos en diferentes especies. Adaptado de Modric, Webb and Derendorf, 1998; Abu-Basha, Idkaidek and Al-Shunnaq, 2007; Rassouli et al., 2016; Zhang, Ling. Zhao, Lin. Liu, Yonghong. Liu, Junfeng. Li, 2017; Abdelhakim Elkomy et al., 2018.^{9-11,13,14}

Especie	Dosis (mg/kg)	Vías de administración ¹	Parámetros farmacocinéticos ²				
			C _{max} (µg/mL)	T _{max} (horas)	Vd(ss) (L/kg)	T _{1/2β} (h)	MRT (h)
Cerdos	40	PO	1.77	3.53	-	43.53	16.81
Aves de engorda	30	PO	2.12	5.82	1.0	45.0	67.15
	25	PO	0.97	2.45	-	14.73	8.15
	20	PO	1.21	2.40	20.4	29.3	42.0
Bovinos	10	SC	0.87	0.50	10906	29.4	36.9
Ovejas	10	SC	0.82	3.9	1651	34.6	40.6

¹PO: vía oral, SC: vía subcutánea.

²T_{max}: Tiempo en el que alcanza la máxima concentración; C_{max}: Concentración plasmática, Vd_{ss}: volumen de distribución al estado estable; T_{1/2β}: Vida media de eliminación; MRT: Tiempo medio de residencia.

En animales infectados experimentalmente se demostró que los valores farmacocinéticos como la concentración sérica máxima (C_{max}) y el área bajo la curva de concentración sérica vs. Tiempo (ABC), disminuyeron considerablemente comparados con animales sanos; esto se atribuye a la absorción del fármaco de manera irregular y posteriormente aumenta la distribución a tejido pulmonar. No obstante, a pesar de que es un fármaco dependiente del tiempo para su eficacia clínica óptima, siempre es importante incrementar el tiempo de estancia de la tilmicosina y aumentar sus concentraciones tisulares.^{12,14}

1.3 Farmacocinética/Farmacodinamia (PK/PD).

En la producción avícola el *Mycoplasma gallisepticum* y el *Mycoplasma synoviae* son uno de los principales agentes causales de la enfermedad respiratoria crónica

complicada (ERCC).^{16,17} A pesar de las prácticas de bioseguridad en todas las etapas de la producción avícola, no se ha podido erradicar al *Mycoplasma* spp. y por lo tanto, se han empleado métodos como la vacunación y el uso de antibióticos, mismos que se consideran a la fecha necesarios para minimizar las pérdidas económicas por esta enfermedad.¹⁸

Se ha demostrado que el uso de tilmicosina en aves es efectivo contra la micoplasmosis, por lo que es empleada en aves reproductoras como metafilaxia para evitar su transmisión vertical en la progenie. De esta manera se reduce o elimina casi por completo los niveles de *Mycoplasma* sp. en las aves. En ellos la transmisión horizontal de esta enfermedad es muy rápida y eficiente, afectando la productividad de las aves.^{19,20} Evidentemente, el uso prolongado de tilmicosina a las dosis actuales puede generar resistencias y se deben aplicar adecuadas proporciones PK/PD llegando a nuevas formas de dosificación.²¹⁻²³

Se eligió para este ensayo a la tilmicosina sobre otros antibacterianos por sus notables efectos inmunomoduladores, antibacterianos e incluso antiinflamatorios.^{8,24,25} La tilmicosina logra además concentrarse a nivel intracelulares en macrófagos y células fagocíticas.⁸ No obstante, al igual que con todos los antimicrobianos, su uso constante da lugar a la generación de cepas resistentes que requieren de proporciones PK/PD mayores. Los mecanismos de resistencia a la tilmicosina, así como a los macrólidos, se debe a mutaciones en los dominios II o V del ARNr 23S, o a los genes *rplD* y *rplV* que codifican las proteínas ribosómicas L4 y L22.^{26,27}

Se ha postulado que el uso racional de antibióticos, con base en proporciones PK/PD permite una adecuada terapéutica y evita o minimiza la generación de resistencias bacterianas.^{26,28} Por ello es necesario lograr relaciones PK/PD más favorables para antibióticos tiempo dependientes, esto es: que las concentraciones séricas durante el intervalo de dosificación estén siempre por arriba del valor de la CMI del patógeno problema y durante todo el intervalo de dosificación si esto es posible. Esto se representa como $T > CMI$ y se expresa como porcentaje (véase Figura 2). Para macrólidos se ha documentado que la

concentración máxima sérica (C_{max}) inicial debe superar de 4 a 5 veces máximo la MIC a manera de carga inicial y la T>CMI debe ser al menos del 70%.²⁹⁻³¹ Parte de este último valor se debe a sus efectos postantibioticos prolongados (EPA). Algunos autores han determinado también que además de T>CMI, la relación ABC₀₋₂₄/CMI puede ser correlacionada con éxito con su eficacia clínica.^{5,27,31} Como guía de la actividad antibacteriana de la tilmicosina se presentan algunos valores de CMI referidos en la literatura.

Cuadro 2.

Valores de CMI para tilmicosina de diferentes microorganismos en aves. Adaptado de Charleston et al., 1998; Abu-Basha, Idkaidek and Al-Shunnaq, 2007; Mohd-zain et al., 2008; Huang, Lin and Wu, 2009; Elbadawy and Aboubakr, 2017.^{10,15,20,32,33}

Microorganismo	CMI ¹ (µg/mL)
<i>Mycoplasma gallisepticum</i>	0.048
<i>Mycoplasma gallisepticum</i>	0.0125
<i>Mycoplasma gallisepticum</i>	0.054
<i>Mycoplasma synoviae</i>	0.1
<i>Staphylococcus aureus</i>	0.04
<i>Ornithobacterium rhinotracheale</i>	0.06-1
<i>Ornithobacterium rhinotracheale</i>	>128
<i>Pasteurella multocida</i>	8

¹ CMI: Concentración mínima inhibitoria.

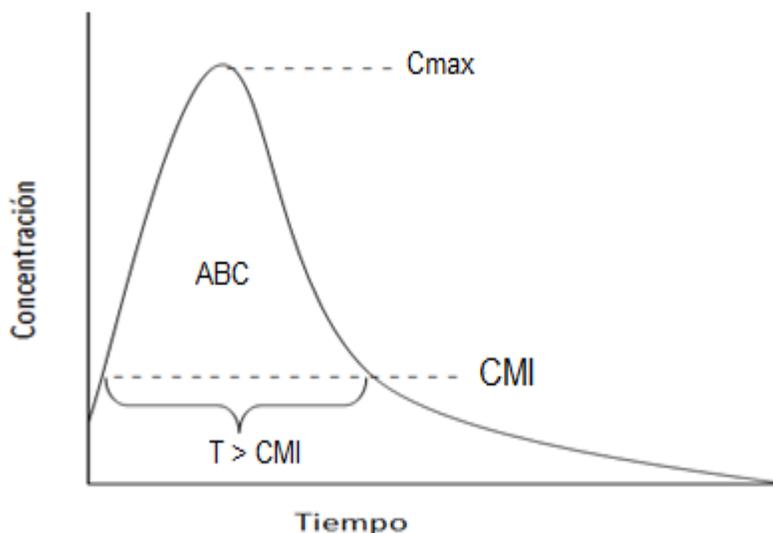


Figura 2. Curva concentración-tiempo: Tiempo>CMI como parámetro farmacodinámico a optimizar para antibióticos dependientes del tiempo.²⁹

Es importante recalcar que los antibacterianos dependientes del tiempo no requieren concentraciones plasmáticas tan altas para ejercer una adecuada eficacia clínica, por lo que aumentar las dosis de éstos no representa necesariamente la mejor alternativa. Por otro lado, la tilmicosina posee actividad cardiotoxica, por lo que al administrarla en dosis altas se han reportado efectos adversos tales como ataxia, taquicardia, pulso yugular, taquipnea y colapso; debido a esto es conveniente buscar una forma de incrementar el tiempo de estancia de las concentraciones plasmáticas sin exceder sus dosis terapéuticas recomendadas.³⁴⁻³⁶

1.4 Vehículos gastrorretentivos.

La administración de tilmicosina en aves, así como de cualquier otro fármaco, se enfrenta a varios desafíos; su absorción puede alterarse por la velocidad del tránsito gastrointestinal y una superficie limitada de absorción a nivel duodenal, además, el diseño de los fármacos antibacterianos tiempo dependientes debe optimizar la biodisponibilidad y aumentar el tiempo de contacto del fármaco con la superficie de absorción duodenal.³⁷ La biodisponibilidad de un fármaco determina

su eficacia terapéutica debido a que puede afectar el inicio, la intensidad y la duración de la acción del fármaco.¹³

Uno de los desafíos a los que se enfrenta la tilmicosina es la poca solubilidad en agua y en medio básicos, en medios ácidos ésta puede formar sales que aumentan su solubilidad; actualmente se emplea la tilmicosina fosfato en presentación oral en mezcla con agua aunque posee baja biodisponibilidad (22%).^{13,35,36} La biodisponibilidad de tilmicosina puede mejorar si se emplea a dosis altas, pero los riesgos de toxicidad cardiaca aguda aumentan conforme aumenta la dosis, por lo que la dosificación y el preparado farmacéutico a emplear debe optimizar su absorción y la biodisponibilidad de la tilmicosina.^{35,38}

Para atender esta última problemática, existen formas farmacéuticas gastrorretentivas que pueden liberar el fármaco de forma continua, optimizando su absorción y evitando así que gran cantidad de fármaco sea eliminado en heces.¹⁸ La administración de vehículos gastrorretentivos permite que se mantenga el fármaco en un sitio en particular mientras lo libera.¹⁸ Un ejemplo de los gastrorretentivos empleados en la industria farmacéutica es el metocel, éste es un biopolímero y su capacidad para liberar el fármaco depende del pH del medio donde se encuentre, siendo su mejor desempeño en un pH cercano a 5 y 6. Es importante señalar que el pH del ingluvis (buche) de las aves se encuentra alrededor de 6, y es en éste en el cual se pretende que el metocel comience su función.³⁹ Para que el metocel se vuelva un material gomoso flexible es necesaria su hidratación para que se hinche y forme poros en los que el fluido ingrese lentamente y se disuelva el fármaco con base en su coeficiente de partición.^{40,41} En un estudio *in vitro* se probaron formulaciones con metocel para un fármaco altamente soluble en agua y un fármaco escasamente soluble en agua, en éste se reveló que algunas de las formulaciones mostraron un comportamiento inicial de primer orden seguido de un comportamiento de liberación de orden cero.⁴⁰

El metocel se ha empleado como dispositivo para preparados de liberación controlada en aves de producción como un vehículo gastrorretentivo, situándose en el ingluvis y ha logrado aumentar las concentraciones séricas del fármaco sin

exceder la dosis terapéutica.^{18,42} Las concentraciones séricas alcanzadas con éste dispositivo de administración han logrado optimizar los regímenes de dosificación para fármacos dependientes del tiempo, en el que la administración del fármaco en las aves está sujeto al consumo del preparado, por lo que mantener su liberación sostenida asegura que hasta su siguiente administración del fármaco mantenga concentraciones significativas.

1.5 Avicultura en México.

La producción avícola representa un sector en crecimiento constante en el país, el CEDRSSA^I (Centro de estudios para el desarrollo rural sustentable y la soberanía alimentaria) estimó un aumento en la avicultura del 166.4% en el periodo de 1994 a 2018 y la UNA (Unión Nacional de Avicultores)^{II} estimó que durante el 2020 ésta representaba el 63% de la producción pecuaria en México.

En el 2020, México se encontraba en 6to lugar entre los principales países de producción de pollo y en el 5to lugar entre los principales países productores de huevo. Esto demuestra que la producción avícola es una de las actividades pecuarias más importantes en el país y que debe mantenerse en constante crecimiento, haciendo mejoras en la producción para evitar las pérdidas que impacten en la economía del productor. En la figura 3 se resume la producción de los principales productos avícolas en México, en el cuál, la carne de pollo y el huevo son los más representativos.^{II}

A pesar del nivel de la producción en México de productos avícolas, ésta no ha logrado satisfacer el consumo nacional, por lo que el CEDRSSA ha propuesto incrementar la producción de carne 940 mil toneladas y la producción de huevo a 3 millones de toneladas; así como disminuir sus importaciones.^I

^I CEDRSSA. [Internet] Reporte La importancia de la industria avícola en México [citado Sep 07, 2021] Disponible de: http://www.cedrssa.gob.mx/files/b/13/47Industria_Avicola_México.pdf

^{II} UNA. [Internet] Compendio de indicadores económicos del sector avícola 2021 [citado Dic 17, 2021] Disponible de: <https://una.org.mx/>

Producto Product	Volumen toneladas Volume tons	Valor de la producción* Producción value*
Huevo/Egg	2,923,331	65,876
Pollo/Chicken	3,593,313	121,332
Pavo/Turkey	7,490	664
Total	6,524,134	187,872

Fuente: DEE/UNA y SIAP ** Premilinares *Millones de pesos

Figura 3. Producción de la industria avícola en el 2020 en México.¹¹

1.6 Tilmicosina en medicina aviar.

Las propiedades farmacocinéticas de la tilmicosina en aves la hace un fármaco ideal para su uso en infecciones respiratorias, es por esto que es importante conocer los principales patógenos que pueden invadir su sistema respiratorio.

Unos de estos patógenos son *Mycoplasma gallisepticum* y *Mycoplasma synoviae*, son bacterias muy pequeñas y sin pared celular, están presentes en parvadas comerciales de pollos de engorda, gallinas reproductoras y de postura en todo el mundo. Las aves se pueden infectar ya sea verticalmente (infección de óvulos) u horizontalmente (contacto directo o aerosoles) causando rinitis, traqueítis, sinusitis, neumonía y aerosaculitis; además de poseer efectos sobre el sistema respiratorio, también causan artritis, salpingitis, mala calidad del huevo y reducción en la postura. Estos micoplasmas pueden llegar a presentar sinergia con el virus de Newcastle, virus de bronquitis infecciosa, adenovirus y *E. coli*.⁴³⁻⁴⁵

Otra bacteria es *Pasteurella multocida*, causante del cólera aviar. Es un bacilo gram negativo inmóvil, que afecta a todas las aves, aunque las aves jóvenes de menos de 16 semanas son menos susceptibles. La vía de entrada es oro-nasal, y pueden causar septicemia aguda, inflamación fibrino-purulenta de varios tejidos, neumonía, depresión, plumas erizadas, fiebre, anorexia, pérdida de peso, diarrea, tos, secreción nasal y ocular, barbilla y cara hinchada, cianosis, artritis y cojera.⁴⁶⁻
⁴⁸ Se demostró la susceptibilidad de *P. multocida* hacia la tilmicosina en un estudio donde se usó microdilución en microcaldo, por lo que se puede justificar su empleo en brotes.³³

La infección por *Ornithobacterium rhinotracheale* afecta las vías aéreas de las aves así como reducción la postura, retraso en el crecimiento y mortalidad. Es una bacteria gram negativa de morfología bacilar con tendencia al pleomorfismo, con distribución mundial. Las aves se infectan horizontalmente (aerosoles) y verticalmente (huevo) causando aerosaculitis, neumonía, reducción en la postura, retraso en el crecimiento, osteítis, meningitis e infecciones articulares.⁴⁹⁻⁵¹

Bordetella avium, es un bacilo gram negativo que ocasiona infección del tracto respiratorio superior (bordetelosis en las aves). Se disemina por contacto directo causando descarga nasal, colapso traqueal, pérdida de peso, inflamación de vías aéreas e inflamación de la barbilla.^{52,53}

La tilmicosina administrada vía oral a dosis de 30 mg/kg ha demostrado alcanzar concentraciones superiores a la CMI de los patógenos mencionados, a excepción de *O. rhinotracheale* y *B. avium*, donde en un estudio se demostró que se necesitaba una alta concentración de tilmicosina para inhibir su crecimiento en aves, por lo que a pesar de estar indicado su tratamiento para estos dos patógenos éste es reservado hacia otras alternativas terapéuticas más eficaces y seguras.^{32,33,51,54,55} Además, el uso de este antimicrobiano está más relacionado a la micoplasmosis aviar, cabe señalar que en brotes en los que se implique sinergia con *E. coli*, tilmicosina no posee actividad antibacteriana frente este patógeno.³³

En los casos que se emplee tilmicosina como opción terapéutica, se debe tomar en cuenta que posee un tiempo de retiro de 6 días para tejidos animales cuando es administrada a 25 mg/kg tres días consecutivos y de 9 días cuando es administrada por 5 días consecutivos.^{14,38} La Agencia Europea para la Evaluación de Medicamentos (EMA)^{III}, en 1998 estableció el límite máximo de residuos (LMR) en distintos tejidos de aves: 75 µg/kg en músculo y piel con grasa, 1 g/kg en hígado y 250 µg/kg en riñones, no existen datos para el huevo debido a que no está aprobado el uso de tilmicosina en gallinas de postura, sin embargo su empleo en aves reproductoras es permitido ya que los huevos producidos no son destinados para el consumo humano.

^{III} EMA. [Internet] Committee for veterinary medicinal products tilmicosin (extension to chicken) summary report [citado Sep 07, 202] Disponible de: https://www.ema.europa.eu/en/documents/mrl-report/tilmicosin-extension-chicken-summary-report-2-committee-veterinary-medicinal-products_en.pdf

2. HIPÓTESIS.

La tilmicosina presentará concentraciones terapéuticas en el suero de aves por más tiempo al combinarla con un vehículo gastrorretentivo que aumente su estancia en el duodeno, esto mediante un preparado farmacéutico diseñado para administrarse en combinación con el alimento^{IV}.

3. OBJETIVO.

Evaluar si es posible incrementar el tiempo de estancia de las concentraciones séricas de tilmicosina, optimizando la relación farmacocinética/farmacodinámica de $T \geq CMI$, mediante la administración por vía oral de preparados con tilmicosina y un vehículo gastrorretentivo que mantenga una liberación continua del fármaco a nivel gastrointestinal^{IV}.

^{IV} Patente No.MX/a/2012/01,3222 y PCT/MX2013/000137; Universidad Nacional Autónoma de México, 2017.

4. MATERIAL Y MÉTODOS.

4.1 Animales.

Se utilizaron 19 aves de la línea Bovans White al final de su ciclo de postura (81 semanas) con un peso promedio de 1.8 kg. Se encontraron albergadas en una granja particular ubicada en la alcaldía Tlahuac, CDMX y se alojaron en jaulas de postura en pirámide con 3 aves por jaula durante toda su producción y durante el estudio. Se suministró 120 g/día de alimento comercial para aves de postura por ave de acuerdo con sus necesidades de materia seca (Cuadro 3) y agua *ad libitum*.

Cuadro 3. Contenido nutricional del alimento comercial para aves de postura.

Proteína cruda mínima	10%
Fibra cruda máxima	8%
Ceniza máxima	10%
Humedad máxima	12%
ELN	58%
Grasa mínima	2%

4.2 Tratamientos.

Las aves se dividieron aleatoriamente en dos grupos. El primer grupo recibió un tratamiento de tilmicosina (10%) con metocel (2.5%) (gastroretentivo) en una forma farmacéutica de liberación prolongada^V denominado TF y el segundo grupo recibió un tratamiento de tilmicosina (10%) en polvo sin vehículo gastroretentivo denominado TC. Los tratamientos se administraron a dosis de 30 mg/kg de tilmicosina y se mezclaron en el alimento de 24 h y se administraron por tres días consecutivos.

^V Patente No.MX/a/2012/01,3222 y PCT/MX2013/000137; Universidad Nacional Autónoma de México, 2017.

Los preparados con tilmicosina y metocel se elaboraron en el laboratorio de investigación 2317 de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia UNAM.

4.3 Toma y procesamiento de muestras.

Se obtuvieron aproximadamente 3 ml de sangre de la vena radial en los tiempos 0, 24, 48, 72 y 168 horas. Las muestras sanguíneas se recolectaron en tubos sin anticoagulante y se dejaron reposar a temperatura ambiente durante 1 hora. Posteriormente se centrifugaron a 3,000 rpm durante 10 minutos. Se separó el suero con pipetas Pasteur y se vertió en viales y finalmente se congelaron a -20°C hasta el momento de su procesamiento.⁴² Las concentraciones séricas de tilmicosina para ambos grupos se determinaron mediante el método microbiológico de Bennet, *et al* con una cepa de *Staphylococcus aureus* en agar tripticasa soya (TSA).⁵⁶ Se elaboró una curva estándar para tilmicosina con suero de aves sin tratamiento con diluciones en serie de $16\ \mu\text{g} / \text{mL}$ a $0.062\ \mu\text{g} / \text{mL}$.

Las variables farmacocinéticas se determinaron mediante el software Micro Math PkAnalyst® para Windows™ versión 1.1 a partir de un modelo monocompartamental. Los valores de tiempo/concentración se graficaron con el software Origin Lab-Pro 8©. Las concentraciones séricas de los tratamientos y los parámetros farmacocinéticos se analizaron mediante prueba de T para muestras no relacionadas con el software JMP 5.0.1a.

5. RESULTADOS.

Las concentraciones séricas promedio y el error estándar (EE) obtenidos en aves Bovans white después de la administración de los tratamientos TF y TC se muestran en la cuadro 4 y figura 4. El promedio y EE de la concentración sérica obtenida a las 24 h para el grupo TF fueron superiores a las del TC con una diferencia estadísticamente significativa ($P < 0.05$), el resto de las concentraciones no demostraron diferencia estadísticamente significativa ($P > 0.05$), sin embargo, para las 168 horas las concentraciones de TF superaron a TC por $0.10 \mu\text{g/mL}$

Cuadro 4. Promedio y error estándar (EE) de las concentraciones séricas ($\mu\text{g/mL}$) de tilmicosina obtenidas en los grupos TF y TC.

Tiempo (h)	Concentraciones séricas ($\mu\text{g/mL}$) ¹	
	TF	TC
24	1.22 ± 0.35^a	0.26 ± 0.17^b
48	1.35 ± 0.37^a	0.98 ± 0.13^a
72	1.02 ± 0.18^a	1.13 ± 0.19^a
168	0.25 ± 0.16^a	0.15 ± 0.15^a

¹TF: Tilmicosina FOLA, TC: Tilmicosina polvo

^{a-b} Diferentes literales indican diferencia estadísticamente significativa entre líneas.

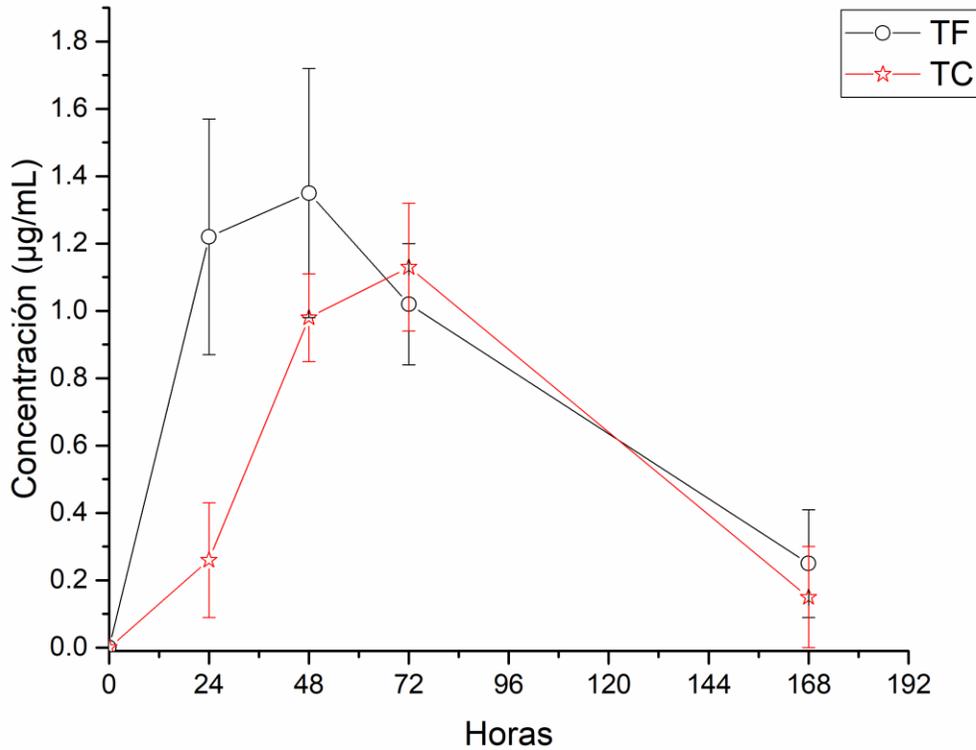


Figura 4. Concentraciones medias \pm EE de tilmicosina en suero en aves Bovans White obtenidos con la administración en el alimento de un preparado de referencia de tilmicosina (TC; estrellas) y de un pellet diseñado para una mejor biodisponibilidad y una acción más prolongada (TF; círculos).

Con el promedio de las concentraciones séricas de cada grupo se obtuvieron los parámetros farmacocinéticos que se presentan en la cuadro 5. Los preparados de tilmicosina administrados en el grupo TF se absorbieron fácilmente en el tracto digestivo de las aves, el grupo TF alcanzó una C_{max} mayor que la de TC, superándola por al menos $0.22 \mu\text{g/mL}$, además presentó una T_{max} en menor tiempo en comparación con TC con una diferencia de 24 h; por lo que el grupo TF alcanzó una concentración más alta en menos tiempo respecto a TC desde la

primera administración. El grupo TF presentó una vida media de eliminación más rápida que TC y un ABC menor, aunque con poca diferencia en ambos casos.

Cuadro 5. Promedio de los parámetros farmacocinéticos de tilmicosina en aves a razón de 30 mg/kg administrados en el alimento por tres días consecutivos.

Parámetros farmacocinéticos ¹	Grupos ²	
	TF	TC
Cmax (µg/mL)	1.35	1.13
Tmax (h)	48	72
T _{1/2β} (h)	38.85	42.94
ABC ₀₋₁₆₈ (µg/mL·h)	148.61	158.52

¹Cmax: Concentración máxima, Tmax: tiempo en el que se alcanzó la concentración máxima, T_{1/2β}: vida media de eliminación, ABC₀₋₁₆₈: área bajo la curva del tiempo 0 a la hora 168.

²TF: Tilmicosina FOLA, TC: Tilmicosina en polvo.

En la cuadro 6 se muestra la relación PK/PD de los preparados de tilmicosina ante bacterias susceptibles reportadas. En el caso de tomar en cuenta solo una CMI, los grupos TF y TC lograron alcanzar concentraciones superiores para las tres especies reportadas de *M. gallisepticum* durante 167.4 h, 165.5 h, 166.5 h y 158.5 h, 160 h, 158.5 h respectivamente, para *M. synoviae* durante 166 h y 156 h respectivamente, y en el caso de *S. aureus* en 167 h y 159.4 h. Para una especie reportada de *O. rhinotracheale* los grupos TF y TC alcanzaron tiempos de 165.7 h (CMI 0.06 µg/mL) – 50 h (CMI 1 µg/mL) y 159 h (CMI 0.06 µg/mL) – 36 h (CMI 1 µg/mL) respectivamente; pero no lograron alcanzar concentraciones que superaran las CMI reportadas de *P. multocida* y una especie de *O. rhinotracheale*. Para el caso del grupo TF, se lograron concentraciones plasmáticas 5 veces la CMI para las tres especies de *M. gallisepticum* hasta las 165, 165.7 y 161 h, *M.*

synoviae hasta 133 h, *S. aureus* 164 h, la especie de *O. rhinotracheale* con CMI de 0.06 µg/mL hasta las 156 h pero para la CMI de 1 µg/mL no se logró superarla. En el grupo TC las concentraciones para *M. gallisepticum* se mantuvieron por arriba de la CMI durante 133 h, 159 h y 130 h, para *M. synoviae* hasta las 92 horas y para *S. aureus* durante 148 horas. Para la especie bacteriana de *O. rhinotracheale* con CMI de 0.06 µg/mL fue durante 128 horas pero con una CMI de 1 µg/mL no se lograron concentraciones significativas. En el caso de otra cepa de *O. rhinotracheale* y *P. multocida* no se superó nunca su CMI en ningún grupo.

En la figura 5 se presentan diferentes CMI reportadas para bacterias susceptibles a tilmicosina y las concentraciones plasmáticas obtenidas para los grupos TF y TC. En esta se muestra que para el caso de *Mycoplasma* sp., *S. aureus* y una especie de *O. rhinotracheale* los grupos TF y TC obtuvieron concentraciones superiores a la CMI desde la primera hora de administración hasta las 166 horas aproximadamente. Para la especie de *O. rhinotracheale* cuya CMI es de 1 µg/mL, se alcanzaron concentraciones superiores hasta las 19 horas en el grupo TF y para el grupo TC hasta las 49 horas. Además, que el grupo TF aumentó sus concentraciones más rápido que el grupo TC y a las 168 h el grupo TF fue superior respecto a TC en 0.1 µg/mL.

Cuadro 6. Evaluación de la relación PK/PD para los grupos TF y TC con la relación T > CMI.

Microorganismo ¹	CMI (µg/mL) ¹	TF ²		TC ²	
		T>CMI x1 (h)	T>CMI x5 (h)	T>CMI x1 (h)	T>CMI x5 (h)
<i>M. gallisepticum</i>	0.048	167.4	165	158.5	133
<i>M. gallisepticum</i>	0.0125	167.5	165.7	160	159
<i>M. gallisepticum</i>	0.054	166.5	161	158.5	130
<i>M. synoviae</i>	0.1	166	133	156	92
<i>S. aureus</i>	0.04	167	164	159.4	148
<i>O. rhinotracheale</i>	0.06-1	165.7-50	156-0	159-36	128-0
<i>O. rhinotracheale</i>	128	0	0	0	0
<i>P. multocida</i>	8	0	0	0	0

¹ CMI: Concentración mínima inhibitoria, *M.*: Mycoplasma, *S. aureus*: Staphylococcus aureus, *O. rhinotracheale*: Ornithobacterium rhinotracheale: *P. multocida*: Pasteurella multocida.

²T: tiempo en el que se supera la CMI en el 70% del intervalo de dosificación, CMI: Concentración mínima inhibitoria, TF: Tilmicosina FOLA, TC: Tilmicosina polvo.

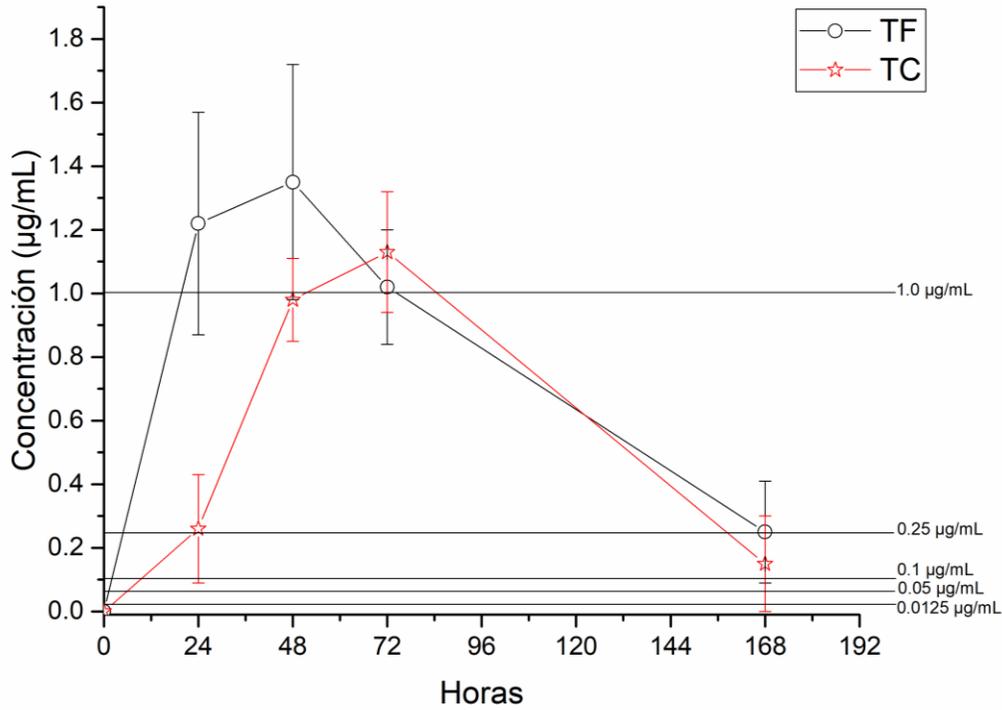


Figura 5. Promedio y EE de concentraciones séricas de TF (tilmicosina en FOLA a razón de 30 mg/kg) (círculos) y TC (tilmicosina en polvo a razón de 30 mg/kg) (estrellas) administrados en el alimento en aves, así como las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) reportadas para tres especies de *M. gallisepticum* 0.048 µg/mL, 0.0125 µg/mL, 0.054 µg/mL respectivamente, *M. synoviae* 0.1 µg/mL, *S. aureus* 0.04 µg/mL, *O. rhinotracheale* 0.06-1 µg/mL.

6. DISCUSIÓN.

Se ha reportado que al administrar una dosis de 25 mg/kg de tilmicosina en el agua de las aves, se obtiene una vida media prolongada de 44.3 h y alcanza una C_{max} de 1.25 µg/mL y una T_{max} de 3.15 h.¹⁵ Posee una buena distribución en el tejido pulmonar logrando concentraciones 14 veces más altas que las séricas, además a las 4 horas postadministración alcanza rangos de concentración intracelular:extracelular en las células fagocíticas como macrófagos, monocitos y heterófilos de 32, 66 y 138 respectivamente.^{8,24} Cuando los heterófilos alveolares fagocitan a las bacterias, el antibiótico es liberado y ejerce su efecto antimicrobiano sin alterar la actividad de los heterófilos.^{8,13,24}

En este estudio se cuantificaron únicamente las concentraciones séricas, en el grupo TF y TC obteniendo una C_{max} de 1.35 µg/mL y 1.13 µg/mL respectivamente, y una T_{max} de 48 h y 72 h para cada grupo. Respecto a lo reportado y al grupo TC, el tratamiento administrado al grupo TF fue superior en C_{max} y con menor T_{max}, lo que favorece que el fármaco alcance concentraciones más altas en tejido pulmonar en menor tiempo y a su vez posiblemente posea mejor eficacia contra diversas especies bacterianas.¹⁵

Por otro lado, el grupo TF logró una ABC más pequeña que la de TC, en el cual las concentraciones de TF aumentaron más rápido y la curva de eliminación de TC se redujo más rápido, para la última muestra a las 168 h las concentraciones de TF fueron más altas por 0.96 µg/mL respecto a TC, a pesar de esto, el grupo TF presentó una T_{1/2β} más corta. Respecto a lo reportado a una dosis de 25 mg/kg en el agua de bebida, sólo se han evaluado estos valores a las 72 horas siendo más cortos por el tiempo en el que se realizó el estudio.¹⁵ Por lo tanto, las concentraciones séricas del grupo TF serían más efectivas contra las especies susceptibles de *Mycoplasma* sp desde las primeras horas de administración.^{15,57-59}

Al ser administrado un vehículo gastrorretentivo (grupo TF) se esperaría que éste liberara el fármaco lentamente y logre una biodisponibilidad mayor, generando una

liberación paulatina permitiendo que la tilmicosina se absorba continuamente en el lumen intestinal y de esta forma incrementa su biodisponibilidad, a esto podría deberse el obtener una mayor C_{max} y una pendiente que disminuye con menor velocidad en comparación al grupo TC a las 168 h.¹⁸

La tilmicosina es un antibiótico macrólido indicado para reducir la transmisión de *M. gallisepticum* y *M. synoviae* al huevo o como tratamiento profiláctico, así como para el tratamiento de la infección por *P. multocida* y *O. rhinotracheale*.⁶⁰ De acuerdo con los índices PK/PD los macrólidos son antibióticos dependientes del tiempo y por lo tanto, deben lograr concentraciones plasmáticas superiores a la CMI durante al menos el 70% del intervalo de dosificación y para lograr su eficacia terapéutica se requieren concentraciones plasmáticas 4-5 veces la CMI.^{23,28} Además, poseen efectos postantibioticos prolongados (EPA) y debido a esto algunos autores han determinado que además del índice PK/PD: $T > CMI$ (tiempo sobre CMI), la relación ABC_{0-24}/CMI permite mayor precisión para determinar su eficacia terapéutica, aunque este valor no se calculó, es importante señalar que las concentraciones se mantuvieron sobre la CMI de patógenos susceptibles por más de 160 h para el grupo TF y 150 h para el grupo TC después de administrar el tratamiento por tres días consecutivos, por lo que es posible cubrir la relación ABC_{0-24}/CMI .³¹

De acuerdo con el promedio de los valores farmacocinéticos obtenidos en suero de las aves, el parámetro $T > CMI$ que presentaron los grupos TF y TC superó la CMI en diversas especies bacterianas de *Mycoplasma* (CMI 0.048, 0.0125, 0.054 y 0.1 $\mu\text{g/mL}$), *S. aureus* (CMI 0.04 $\mu\text{g/mL}$) y una cepa de *O. rhinotracheale* (CMI 0.06 $\mu\text{g/mL}$) por al menos 156 h continuas, por lo que estos tratamientos si serían eficaces contra estos patógenos al administrar tres dosis consecutivas del tratamiento a razón de 30 mg/kg. Para el caso de *P. multocida* (CMI 8 $\mu\text{g/mL}$) y una cepa de *O. rhinotracheale* (CMI 128 $\mu\text{g/mL}$) a pesar de que se ha reportado como tratamiento a la tilmicosina, esta no podría considerarse como un tratamiento eficaz de acuerdo con las concentraciones obtenidas en este estudio para ambos tratamientos, así como lo reportado al administrar 25 mg/kg en agua, no se logra

superar el índice de PK/PD debido a que poseen una CMI muy alta, es por lo anterior que es importante considerar la susceptibilidad de los microorganismos de acuerdo con las información en estudios farmacocinéticos en la especie objetivo y no utilizar directamente la información de susceptibilidad *in vitro*.^{10,15,32,33}

El grupo TF logró concentraciones plasmáticas 5 veces la CMI desde la primer hora de administración hasta poco más de 161 horas frente a *M. gallisepticum* (CMI 0.048, 0.0125 y 0.054 µg/mL), cerca de 133 h contra *M. synoviae* (CMI 0.1 µg/mL) y de 164 h contra *S. aureus* (CMI 0.04 µg/mL). Respecto al grupo TC se obtuvieron concentraciones efectivas a partir de las 12 h pos administración y se mantuvieron durante poco más de 130 horas frente a *M. gallisepticum* (CMI 0.048, 0.0125 y 0.054 µg/mL), en el caso de *M. synoviae* desde las 30 h hasta las 92 h (CMI 0.1 µg/mL) y para el caso de *S. aureus* desde las 20 h hasta las 164 horas (CMI 0.04 µg/mL).²⁸ Para la especie *O. rhinotracheale* (CMI 1 µg/mL), en el caso de TF se lograron concentraciones superiores a su CMI desde las 22 h manteniéndose hasta las 72 h, por lo que estuvo sobre la CMI 50 horas; por otro lado en el caso de TC con este mismo patógeno se lograron concentraciones superiores después de las 48 h y se mantuvieron hasta las 84 h, teniendo concentraciones superiores a la CMI solo por 36 h; por lo tanto TF resulta presentar un efecto terapéutico en menor tiempo en comparación a TC y se mantiene durante más tiempo presentando una mayor eficacia, en caso de requerirse un tratamiento para un patógeno menos susceptible como *O. rhinotracheale* sería conveniente redosificar a las 72 h para el grupo TF y para el grupo TC se debería redosificar a las 84 h o de forma práctica a las 72 h igual que el grupo TF y de esta forma elevar sus concentraciones considerando no exceder los 5 días de tratamiento recomendados de tilmicosina en aves.²⁴

De acuerdo con las concentraciones séricas y los valores farmacocinéticos obtenidos para el grupo TF, la administración de modificadores de liberación hace posible incrementar las concentraciones séricas sin exceder la dosis administrada, aunque al incrementar la dosis podría directamente aumentar las concentraciones séricas y superar por más tiempo las CMI de los patógenos susceptibles, no es

conveniente debido a la toxicidad que puede presentar sobre el miocardio de las aves alterando el flujo del ión calcio a la célula cardiaca impidiendo la contracción del corazón, además de aumentar los niveles de IL-22, TNF- α , y IFN- α favoreciendo la inflamación, sin dejar de lado las repercusiones económicas que se puedan generar.^{34,61} Por lo que, a pesar de estar indicado el uso de tilmicosina en aves contra diversos patógenos, suele ser más efectivo únicamente para las diversas especies de micoplasma.¹⁰

Debido a la buena distribución de tilmicosina a nivel pulmonar, hace de este antimicrobiano una buena opción terapéutica para bacterias susceptibles a nivel respiratorio, sin embargo existen bacterias que además de afectar tejido pulmonar también lo hacen en otros sitios como tracto reproductivo y articulaciones, tal es el caso de *M. synoviae*, que genera malformaciones de huevo, reducción de la postura y sinovitis.⁵⁹ En un estudio se demostró que esta bacteria poseía excelente susceptibilidad a los macrólidos de 16 átomos de carbono, como lo es la tilmicosina; pero desarrollaba rápidamente resistencia en condiciones *in vitro*.⁵⁹ También se evaluó la susceptibilidad de *M. gallisepticum* a tilmicosina, y tanto *in vivo* como *in vitro* fue susceptible, pero cuando ésta posee una CMI $\geq 1.25\mu\text{g/mL}$ se reportó que ya había presentado una mutación en el dominio V del gen que codifica el ARNr 23S.^{58,62} Esto refuerza la idea de que los tratamientos con antibacterianos deben administrarse únicamente con previo diagnóstico y contra bacterias susceptibles *in vitro* en el tiempo establecido para asegurar su máxima eficacia y de esta forma evitar el desarrollo de resistencia a los antimicrobianos.⁵⁹

En este estudio se administraron los preparados de tilmicosina mezclados con el alimento, a diferencia de los productos comerciales en los que se administra el polvo de tilmicosina en el agua de bebida de las aves. Tanto para su administración en el agua como para el alimento, la ingesta del antibiótico se puede modificar por el consumo de las aves, pero es en el agua de bebida en donde se ha demostrado interferencia entre la dureza del agua y el antibiótico diluido en ella; por lo que una alternativa para esto es la administración en una forma farmacéutica en el alimento.⁶³ Por otra parte diversos medicamentos se

recomiendan para su administración en el agua de bebida, por lo que se podrían presentar diversas interacciones al combinarlos en el agua y con esto reducir la biodisponibilidad de la tilmicosina.⁶⁴⁻⁶⁷ Aunque la biodisponibilidad de la tilmicosina pueda ser baja en aves cuando es administrada por vía oral, en este estudio los resultados obtenidos demuestran que al combinarla con un vehículo gastroretentivo y administrarla en el alimento a dosis de 30 mg/kg se obtienen concentraciones óptimas para asegurar su eficacia contra *M. gallisepticum* y *M. synoviae*, tal como se ha evaluado al administrarse en el agua.^{57,58,68}

A pesar de que los resultados obtenidos en este estudio son favorables para la administración de tilmicosina en una forma farmacéutica de liberación prologada, aún es necesario determinar un óptimo tiempo de retiro. Cuando se administra en el agua de bebida de las aves se sugiere que ésta tenga un tiempo de retiro de 9 días si el tratamiento se administra por 5 días consecutivos; al administrarse un vehículo gastroretentivo no solo se incrementa la biodisponibilidad de la tilmicosina, también el tiempo de estancia en los diferentes tejidos; por lo que se debería realizar una posterior evaluación de los niveles séricos del fármaco y de las concentraciones alcanzadas en tejidos como el adiposo, piel, riñón, hígado y músculo, para tener una mayor certeza de la eficacia y de su seguridad en las aves y en el consumidor.^{14,38}

Por otra parte, es conveniente realizar las mediciones de las concentraciones séricas cuando se administren 5 días consecutivos del preparado utilizado en el grupo TF, tal como se recomienda en los productos de administración en el agua de bebida, esto incrementaría sus concentraciones séricas y el tiempo de estancia del fármaco, a su vez estaría más tiempo sobre la CMI, logrando una mayor eficacia terapéutica frente a las bacterias sensibles.^{10,15,32,33}

Si bien las concentraciones séricas y los parámetros farmacocinéticos son indispensables para la evaluación de la eficacia de un fármaco, es importante que se evalúe la eficacia clínica del preparado del grupo TF en animales con micoplasmosis, ya que el tratamiento depende del consumo oral del preparado, además del momento en el que se administre, se ha reportado que las aves

infectadas con *M. gallisepticum* respondieron bien al tratamiento de tilmicosina a una dosis de 25 mg/kg vía oral en el agua de bebida administrado a partir del día 22 post infección, presentando una reducción de los signos clínicos, mortalidad y lesiones en los sacos aéreos, estos datos nos ayudan a establecer una terapéutica basada en la administración de tilmicosina y al administrarse un vehículo de liberación prolongada como en el grupo TF se esperaría una reducción en los tiempos de recuperación minimizando las alteraciones de los parámetros de productividad de las aves que se presentan con la enfermedad.¹⁵

7. CONCLUSIÓN.

En este estudio se demostró que la administración de tilmicosina con un vehículo gastrorretentivo (metocel 2.5%) (grupo TF) adicionado en el alimento a razón de 30 mg/kg de peso vivo durante 3 días consecutivos, favorece la biodisponibilidad de tilmicosina desde las primeras horas de administración y cuando se adiciona el polvo de tilmicosina en el alimento, éste logra concentraciones significativas hasta después de las 24 horas. El grupo TF logra concentraciones sobre CMI de patógenos susceptibles por al menos 160 h, mientras que TC solo por 150 h sobre la CMI de éstos. Las concentraciones séricas obtenidas de TF fueron óptimas para superar las necesidades de un antibiótico dependiente del tiempo, incluso más de lo alcanzado por TC por lo que puede considerarse como un tratamiento efectivo contra patógenos como *M. gallisepticum* y *M. synoviae*. Sería recomendable realizar un estudio complementario para prolongar hasta 5 días la administración del preparado utilizado en el grupo TF, tal como lo indican los productos comerciales de uso en el agua, sin olvidar que es necesario establecer un nuevo tiempo de retiro adecuado al preparado aquí reportado debido al incremento en la biodisponibilidad observada con el uso de éste.

8. REFERENCIAS.

1. Zhang Y, Jiang H, Jin X, et al. Residue Depletion of Tilmicosin in Chicken Tissues. *J Agric Food Chem.* 2004;52(9):2602-2605. doi:10.1021/jf035515z
2. Dinos GP. The macrolide antibiotic renaissance. *Br J Pharmacol.* 2017;174(18):2967-2983. doi:10.1111/bph.13936
3. Debono M, Willard KE, Kirst HA, et al. Synthesis and antimicrobial evaluation of 20-deoxo-20-(3,5-dimethylpiperidin-1-yl)desmycosin (tilmicosin, EL-870) and related cyclic amino derivatives. *J Antibiot (Tokyo).* 1989;XLII(8):1253-1267. doi:10.7164/antibiotics.42.1253.
4. Lemli B, Derdák D, Laczay P, Kovács D, Kunsági-Máté S. Noncovalent interaction of tilmicocin with bovine serum albumin. *Molecules.* 2018;23(8):1-10. doi:10.3390/molecules23081915
5. Huang Z, Wu Y, Zhou Z, et al. Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Integration and Resistance Analysis of Tilmicosin Against *Mycoplasma gallisepticum* in an In Vitro Dynamic Model. *Front Pharmacol.* 2019;10(June):1-10. doi:10.3389/fphar.2019.00670
6. Scorneaux B, Shryock TR. Intracellular accumulation, subcellular distribution, and efflux of tilmicocin in bovine mammary, blood, and lung cells. *J Dairy Sci.* 1999;82(6):1202-1212. doi:10.3168/jds.S0022-0302(99)75343-9
7. Brumbaugh GW, Herman JD, Clancy JS, et al. Effect of tilmicocin on chemotactic, phagocytic, and bactericidal activities of bovine and porcine alveolar macrophages. *Am J Vet Res.* 2002;63(1):36-41. doi:10.2460/AJVR.2002.63.36
8. Scorneaux B, Shryock TR. Intracellular accumulation, subcellular distribution, and efflux of tilmicocin in chicken phagocytes. *Poult Sci.* 1998;77(10):1510-1521. doi:https://doi.org/10.1093/ps/77.10.1510

9. Zhang, Ling. Zhao, Lin. Liu, Yonghong. Liu, Junfeng. Li X. Pharmacokinetics of tilmicosin in healthy pigs and in pigs experimentally infected with *Haemophilus parasuis*. *J Vet Sci*. 2017;18(4):431-437. doi:10.4142/jvs.2017.18.4.431
10. Abu-Basha EA, Idkaidek NM, Al-Shunnaq AF. Pharmacokinetics of tilmicosin (Provitil powder and pulmotil liquid AC) oral formulations in chickens. *Vet Res Commun*. 2007;31(4):477-485. doi:10.1007/s11259-006-3543-6
11. Modric S, Webb AI, Derendorf H. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of tilmicosin in sheep and cattle. *J Vet Pharmacol Ther*. 1998;21(6):444-452. doi:10.1046/j.1365-2885.1998.00177.x
12. El-komy AAEA, Gamal M, E EA. Pharmacokinetics of Tilmicosin in Healthy and Experimentally *Pastreulla Multocida* Infected Lactating Goats. *World J Pharm Pharm Sci*. 2016;5(6):2429-2438. doi:10.20959/wjpps20166-7091
13. Rassouli A, Al-Qushawi A, Atyabi F, Peighambari SM, Esfandyari-Manesh M, Shams GR. Pharmacokinetics and bioavailability of three promising tilmicosin-loaded lipid nanoparticles in comparison with tilmicosin phosphate following oral administration in broiler chickens. *Turkish J Vet Anim Sci*. 2016;40(5):540-547. doi:10.3906/vet-1601-32
14. Abdelhakim Elkomy A, Eltanany N, Aboubakr M, Roushdy Mohamed Z, Elbadawy M. Pharmacokinetics and Tissue Residues of Tilmicosin in Normal and Experimentally *Mycoplasma Gallisepticum*-Infected Broiler Chickens. *Benha Vet Med J*. 2018;34(3):188-205. doi:10.21608/bvmj.2018.44745
15. Elbadawy M, Aboubakr M. Pharmacokinetics, tissue residues of tilmicosin phosphate (tilmicoral®) and its in vitro and in vivo evaluation for the control of *Mycoplasma gallisepticum* infection in broiler chickens. *Int J Pharmacol Toxicol*. 2017;5(1):11-16. doi:10.14419/ijpt.v5i1.7084
16. Bennett RM, McClement I, McFarlane ID, Parker CD. Modelling of control options for an outbreak of *Mycoplasma gallisepticum* in egg production: A

- decision support tool. *Vet J.* 2013;198(3):661-665. doi:10.1016/j.tvjl.2013.09.058
17. Chan RM. Produccion Artificial Controlada De La Enfermedad Respiratoria Cronica Complicada (ERCC) En Pollo. *Cienc Vet.* 1996:103-114.
 18. Gutiérrez L, Zermeño J, Alcalá Y, Sumano H. Higher bioavailability of doxycycline in broiler chickens with a novel in-feed pharmaceutical formulation. *Poult Sci.* 2017;96(8):2662-2669. doi:10.3382/ps/pex036
 19. Marroquín Cardona AG. Implementación del diagnóstico de *Mycoplasma gallisepticum* y *Mycoplasma synoviae* mediante PCR-RFLP en aves de producción. 2005.
 20. Charleston B, Gate JJ, Aitken IA, Reeve-Johnson L. Assessment of the efficacy of tilmicosin as a treatment for *Mycoplasma gallisepticum* infections in chickens. *Avian Pathol.* 1998;27(2):190-195. doi:10.1080/03079459808419322
 21. Kitamura Y, Yoshida K, Kusama M, Sugiyama Y. A proposal of a pharmacokinetic/pharmacodynamic (PK/PD) index map for selecting an optimal PK/PD index from conventional indices (AUC/MIC, C_{max}/MIC, and TAM) for antibiotics. *Drug Metab Pharmacokinet.* 2014;29(6):455-462. doi:10.2133/dmpk.DMPK-14-RG-013
 22. Nielsen EI, Cars O, Friberg LE. Pharmacokinetic/Pharmacodynamic (PK/PD) indices of antibiotics predicted by a semimechanistic PKPD model: A step toward model-based dose optimization. *Antimicrob Agents Chemother.* 2011;55(10):4619-4630. doi:10.1128/AAC.00182-11
 23. Liu P, Müller, Markus. Derendorf H. Rational dosing of antibiotics: the use of plasma concentrations versus tissue concentrations. *Int J Antimicrob Agents.* 2002;19(4):285-290. doi:Liu, P., Müller, M., & Derendorf, H. (2002). Rational dosing of antibiotics: the use of plasma concentrations versus tissue concentrations. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 19(4), 285–

290. doi:10.1016/s0924-8579(02)00024-9
24. Zhang N, Liu Z, Wei Y, et al. Comparison of the pharmacokinetics of tilmicosin in plasma and lung tissue in healthy chickens and chickens experimentally infected with *Mycoplasma gallisepticum*. *J Vet Pharmacol Ther.* 2020;43(4):347-354. doi:10.1111/jvp.12847
 25. Martínez Cortés, Ismael. Acevedo Domínguez, Naray A. Olguin Alor, Roxana. Cortés Hernández, Arimelek. Álvarez Jiménez, Violeta. Campillo Navarro Marcia. Sumano López, Héctor. Gutiérrez Olvera, Lillia. Martínez Gómez, Daniel. Maravillas Montero, José L. Lo G. Tilmicosin modulates the innate immune response and preserves casein production in bovine mammary alveolar cells during *Staphylococcus aureus* infection. *J Anim Sci.* 2019;97(2):644–656. doi:https://doi.org/10.1093/jas/sky463
 26. Huang Z, Hu Z, Xia X, et al. The PK/PD integration and resistance of tilmicosin against *Mycoplasma hyopneumoniae*. *Pathogens.* 2020;9(487):1-12. doi:10.1101/2020.03.04.977488
 27. Toutain PL, Potter T, Pelligand L, Lacroix M, Illambas J, Lees P. Standard PK/PD concepts can be applied to determine a dosage regimen for a macrolide: the case of tulathromycin in the calf. *J Vet Pharmacol Ther.* 2017;40(1):16-27. doi:10.1111/jvp.12333
 28. Aquino Díaz IF. Farmacocinética sérica y concentración en leche de tres preparados de enrofloxacin con promotores de la biodisponibilidad. 2010.
 29. Eyler RF, Shvets K. Clinical pharmacology of antibiotics. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2019;14(7):1080-1090. doi:10.2215/CJN.08140718
 30. Andes D, Anon J, Jacobs MR, Craig WA. Application of pharmacokinetics and pharmacodynamics to antimicrobial therapy of respiratory tract infections. *Clin Lab Med.* 2004;24(2):477-502. doi:10.1016/j.cll.2004.03.009
 31. Jacobs MR. Combating resistance: application of the emerging science of

- pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Int J Antimicrob Agents*. 2007;30(SUPPL. 2):122-126. doi:10.1016/j.ijantimicag.2007.07.036
32. Mohd-zain Z, Jee TANLIN, Jusoff K, Haven N. Phenotypic Characteristics , Antibiotic Susceptibility and Pathogenicity of *Ornithobacterium rhinotracheale*. *WSEAS Trans Biol Biomed*. 2008;5(7):133-142.
 33. Huang TM, Lin TL, Wu CC. Antimicrobial susceptibility and resistance of chicken *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., and *Pasteurella multocida* isolates. *Avian Dis*. 2009;53(1):89-93. doi:10.1637/8268-021608-Reg.1
 34. Zhang X, Zhu J, Yang B, et al. Transcriptomic investigation reveals toxic damage due to tilmicosin and potential resistance against tilmicosin in primary chicken myocardial cells. *Poult Sci*. 2020;99(12):6355-6370. doi:10.1016/j.psj.2020.08.080
 35. Ziv G, Shem-Tov M, Glickman A, Winkler M, Saran A. Tilmicosin antibacterial activity and pharmacokinetics in cows. *J Vet Pharmacol Ther*. 1995;18(5):340-345. doi:10.1111/j.1365-2885.1995.tb00601.x
 36. Chen X, Wang T, Lu M, Zhu L, Wang Y, Zhou WZ. Preparation and evaluation of tilmicosin-loaded hydrogenated castor oil nanoparticle suspensions of different particle sizes. *Int J Nanomedicine*. 2014;9(1):2655-2664. doi:10.2147/IJN.S58898
 37. Sumano López, Héctor. Gutiérrez Olvera L-. Primer antibacteriano latinoamericano para uso veterinario-. *Coord Innovación y Desarro CID-UNAM*. 2014;53(9):1689-1699. doi:10.1017/CBO9781107415324.004
 38. Elsayed M, Elkomy A, Aboubakr M, Morad M. Tissue residues, hematological and biochemical effects of tilmicosin in broiler chicken. *Vet Med Int*. 2014;2014. doi:10.1155/2014/502872
 39. Vermeulen B, De Backer P, Remon JP. Drug administration to poultry. *Adv Drug Deliv Rev*. 2002;54(6):795-803. doi:10.1016/S0169-409X(02)00069-8

40. Bala Ramesha Chary R, Madhusudan Rao Y. Formulation and evaluation of Methocel K15M bioadhesive matrix tablets. *Drug Dev Ind Pharm.* 2000;26(8):901-906. doi:10.1081/DDC-100101316
41. Biswas BK, Islam MS, Begum F, Rouf ASS. In vitro release kinetic study of esomeprazole magnesium from methocel K15M and methocel K100 LVCR matrix tablets. *Dhaka Univ J Pharm Sci.* 2008;7(1):39-45.
42. Gutierrez L, Alcalá Y, Bernad MJ, Sumano H. Increased bioavailability of tylosin phosphate as in-feed medication formulated for long-action pellets in broiler chickens. *J Appl Poult Res.* 2018;27(1):16-22. doi:10.3382/japr/pfx035
43. Peebles ED, Branton SL. Mycoplasma gallisepticum in the commercial egg-laying hen: A historical perspective considering the effects of pathogen strain, age of the bird at inoculation, and diet on performance and physiology. *J Appl Poult Res.* 2012;21(4):897-914. doi:10.3382/japr.2012-00555
44. Jordan FTW. Avian mycoplasma and pathogenicity - a review. *Avian Pathol.* 1975;4(3):165-174. doi:10.1080/03079457509353863
45. Kleven SH. Mycoplasmas in the Etiology of Multifactorial Respiratory Disease. *Poult Sci.* 1998;77(8):1146-1149. doi:10.1093/ps/77.8.1146
46. Raidal SR. *Pasteurellosis in Backyard Poultry and Other Birds.*; 1997.
47. Mbutia PG, Njagi LW, Nyaga PN, et al. Pasteurella multocida in scavenging family chickens and ducks: Carrier status, age susceptibility and transmission between species. *Avian Pathol.* 2008;37(1):51-57. doi:10.1080/03079450701784891
48. Wakenell P. *Management and Medicine of Backyard Poultry.* Elsevier Inc.; 2016. doi:10.1016/b978-1-4557-4671-2.00024-0
49. Soriano Vargas E, Fernández Rosas P, Téllez Isaías G. Ornithobacterium rhinotracheale: un agente patógeno emergente en avicultura. *Vet Méx.*

2000;31(3):245-253.

50. Van Empel PCM, Hafez HM. *Ornithobacterium rhinotracheale*: A review. *Avian Pathol.* 1999;28(3):217-227. doi:10.1080/03079459994704
51. Szabó R, Wehmann E, Magyar T. Antimicrobial susceptibility of *Bordetella Avium* and *Ornithobacterium Rhinotracheale* strains from wild and domesticated birds in Hungary. *Acta Vet Hung.* 2015;63(4):413-424. doi:10.1556/004.2015.039
52. Temple LM, Weiss AA, Walker KE, et al. *Bordetella avium* virulence measured in vivo and in vitro. *Infect Immun.* 1998;66(11):5244-5251. doi:10.1128/iai.66.11.5244-5251.1998
53. Alstine WG Van. Structural and functional effects of *Bordetella avium* infection in the turkey respiratory tract. 1987.
54. Nhung NT, Chansiripornchai N, Carrique-Mas JJ. Antimicrobial resistance in bacterial poultry pathogens: A review. *Front Vet Sci.* 2017;4(AUG):1-17. doi:10.3389/fvets.2017.00126
55. Keleş O, Bakirel T, Şener S, Baktir G, Dağoğlu G, Özkan O. Tavuklarda Tilmikosinin Farmakokinetiği ve Dokulardaki Düzeyleri. *Turkish J Vet Anim Sci.* 2001;25(4):629-634.
56. John V. Bennett, Jean L. Brodie, Ernest J. Benner and WMK. Simplified, accurate method for antibiotic assay of clinical specimens. *Appl Microbiol.* 1966;14(2):170–177.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC546645/>.
57. Kempf I, Reeve-Johnson L, Gesbert F, Guittet M. Efficacy of tilmicosin in the control of experimental *mycoplasma gallisepticum* infection in chickens. *Avian Dis.* 1997;41(4):802-807. doi:10.2307/1592332
58. Wafaa, A. Abd E-G. The In-vitro and In-vivo Evaluation of Tiamulin and Tilmicosin for the Treatment of *Mycoplasma gallisepticum* Infected Broiler

- Chickens. *Int J Poult Sci.* 2009;8(12):1189-1198. doi:10.3923/ijps.2009.1189.1198
59. Kreizinger Z, Gróznér D, Sulyok KM, et al. Antibiotic susceptibility profiles of *Mycoplasma synoviae* strains originating from Central and Eastern Europe. *BMC Vet Res.* 2017;13(1):1-10. doi:10.1186/s12917-017-1266-2
60. Kleven SH. Control of Avian *Mycoplasma* Infections in Commercial Poultry. *Avian Dis Dig.* 2008;3(3):e1-e1. doi:10.1637/8424.1
61. Han C, Qi CM, Zhao BK, et al. Hydrogenated castor oil nanoparticles as carriers for the subcutaneous administration of tilmicosin: In vitro and in vivo studies. *J Vet Pharmacol Ther.* 2009;32(2):116-123. doi:10.1111/j.1365-2885.2008.01009.x
62. Gerchman I, Levisohn S, Mikula I, Manso-Silván L, Lysnyansky I. Characterization of in vivo-acquired resistance to macrolides of *Mycoplasma gallisepticum* strains isolated from poultry. *Vet Res.* 2011;42(1):90. doi:10.1186/1297-9716-42-90
63. Ledesma C. Efecto de desinfectantes utilizados en las redes de distribución y depósitos del agua de bebida en la industria avícola, sobre la actividad antibacteriana de antibióticos. 2017.
64. Anadón A, Reeve-Johnson L. Macrolide antibiotics, drug interactions and microsomal enzymes: Implications for veterinary medicine. *Res Vet Sci.* 1999;66(3):197-203. doi:10.1053/rvsc.1998.0244
65. Shaban NS, Radi AM, Bogzil AH, El-Banna HA, Mobarez EA, El-Gendy AAM. Effect of bromhexine on the pharmacokinetic of tilmicosin in broiler chickens. *Biomed Pharmacol J.* 2019;12(3):1085-1093. doi:10.13005/bpj/1738
66. Abd El Aziz MI, El Shazly KA, El Kahky, Mona A, El Sherbeney, Eman ME. The Effect of Tilmicosin and Apramycin Alone or Together in Treatment of

Experimentally Infected Chickens With *Mycoplasma Gallisepticum* Only or With *Escherichia Coli*. *Kafrelsheikh Vet Med J*. 2014;12(1):139-178. doi:10.21608/kvmj.2014.110136

67. Shryock TR, Klink PR, Readnour RS, Tonkinson L V. Effect of bentonite incorporated in a feed ration with tilmicosin in the prevention of induced *Mycoplasma gallisepticum* airsacculitis in broiler chickens. *Avian Dis*. 1994;38(3):501-505. doi:10.2307/1592071
68. Jordan FTW, Horrocks BK. The minimum inhibitory concentration of tilmicosin and tylosin for *Mycoplasma gallisepticum* and *Mycoplasma synoviae* and a comparison of their efficacy in the control of *Mycoplasma gallisepticum* infection in broiler chicks. *Avian Dis*. 1996;40(2):326-334. doi:10.2307/1592228